Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. J. Ströder

ÜBER DIE KATALASEAKTIVITÄT DES SÄUGLINGSBLUTES UND IHRE BESTIMMUNG MITTELS POLAROGRAPHIE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Erich S C H Ü T Z

aus Aussig-Türmitz

W ü r z b u r g 1 9 5 4

Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. J. Ströder

ÜBER DIE KATALASEAKTIVITÄT DES SÄUGLINGSBLUTES UND IHRE BESTIMMUNG MITTELS POLAROGRAPHIE

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Erich SCHÜTZ

aus Aussig-Türmitz

Würzburg 1954

Referent: Priv. Doz. Dr. W. Künzer

Korreferent: Prof. Dr. J. Ströder

Tag der mündl. Präfung:

10. März 1954

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Inhalt

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	1
1. Die Neigung zur Hämiglobinbildung	1
2. Die Neigung zur Innenkörperbildung	2
3. Über die Bedeutung der Katalase	3
4. Literaturzusammenfassung	6
III. Methodik	7
1. Zur Aktivitätsbestimmung der Katalase	7
2. Abhängigkeiten der Katalaseaktivität	8
3. Wege und Kritik zur Katalasebestimmung	9
4. Wesen der Polarographie	11
5. Die quantitative, polarographische Analyse	13
6. Eigene Methodik	18
IV. Diskussion der Methode	19
1. Das Problem der Konzentrationen	19
2. Die Reaktionslösung	22
3. Das Polarogramm	24
4. Fehlerdiskussion	25
V. Versuchsergebnisse	26
1. Auswertung der Kurven	26
2. Berechnung der Ergebnisse	27
3. Ergebnisse und Diagramme der Untersuchungen	30
VI. Diskussion der Ergebnisse	35
1. Ergebnisvergleich mit früheren Angaben	35
2. Katalasebestimmung ohne Konzentrationsausgleich	36
3. Katalasebest. unter Konzentr.-berücksichtigung	39
4. Kinderkurven und Altersabhängigkeit	41
5. Infekt und Katalaseaktivität	43
6. Katalasewerte in Abhängigkeit vom Geschlecht	44
7. Folgerungen für den Blutfarbstoffwechsel	45
VII. Zusammenfassung	47
VIII. Danksagung	49
IX. Literaturübersicht	50

I. Einleitung

Im Rahmen von Untersuchungen über den Blutfarbstoffwechsel des Säuglings ist öfters dargelegt worden, daß im frühen Kindesalter sowohl zur Hämiglobinbildung als auch zum Auftreten von Innenkörpern (Heinzschen Körpern) in den Erythrocyten große Neigung besteht. Ferner konnte gezeigt werden, welch bedeutenden Einfluß auf die Farbstoffwechselmechanismen der roten Blutzelle ihre verschiedenen Fermentsysteme nehmen, und daß diese gerade beim jungen Säugling eine Wirkungsschwäche aufweisen.

Zur Klärung der Frage, ob auch eine Verminderung der Katalaseaktivität in Nabelschnur- und Säuglingserythrocyten eine Rolle bei der größeren Empfindlichkeit ihres Blutfarbstoffes spielt, befaßt sich diese Arbeit mit der experimentellen Prüfung der Aktivität der Erythrocytenkatalase verschiedener Altersklassen des Säuglings - unter besonderer Berücksichtigung des frühen Säuglingsalters - im Vergleich mit den Verhältnissen beim Erwachsenen.

II. Literatur

Die Neigung zur Hämiglobinbildung

Seit Jahren liegen klinische Beobachtungen vor über die große Häufigkeit von Hämiglobinämien bei Säuglingen im ersten Trimenon, ausgelöst durch nitrithaltiges Wasser, Vergiftungen mit Wäschetinte und sogar auf Gaben neuerer Sulfonamide (43). Diesen Tatsachen nachgehend, wiesen in letzter Zeit viele Autoren einen deutlich verminderten Oxydationsschutz des Hämoglobins junger Säuglinge gegenüber dem Blutfarbstoff Erwachsener nach. BETKE (5) konnte zum Beispiel zeigen, daß das fetale Hämoglobin, welches etwa 80 % des gesamten Blutfarbstoffes des Neugeborenen ausmacht, sehr viel leichter zu Hämiglobin (Methämoglobin) oxydierbar ist. Ferner stellten KÜNZER und Mitarbeiter fest, daß die reduzierenden Fermentsysteme, welche das Hämoglobin in der zur reversiblen Sauerstoffbindung fähigen Form halten, im Vergleich mit Erwachsenen eine Leistungsschwäche aufweisen. Bei Einwirkung von Nitrit auf Nabelschnur- und Erwachsenen-

erythrocyten steigt - unter gleichen Versuchsbedingungen - einmal der Hämiglobinspiegel im Nabelschnurblut schneller an (42), zum anderen ist die Reduktion des Hämiglobins zu Hämoglobin deutlich verlangsamt (41).

Die Neigung zur Innenkörperbildung

KÜNZER und AMBS konnten mit Kaliumchlorat und Dinitroglykoll unter bestimmten Versuchsbedingungen im Nabelschnurblut Innenkörper erzeugen, während in den Erythrocyten Erwachsener, bei gleicher Konzentration und Bebrütungsdauer, keine Veränderungen auftraten (44). Darüberhinaus berichten Schweizer Arbeiten über spontan auftretende Innenkörper bei Neugeborenen, besonders Frühgeborenen (29). So fanden WILLI und HARTMAYER (67) bei regelmäßiger Fahndung nach dieser Veränderung unter 1251 Neugeborenen 409 Fälle mit 20 bis 50‰ und 93 Fälle mit 100 und 150‰ Spontaninnenkörper. Bei der tödlich verlaufenden, hämolytischen Anämie einer Frühgeburt wurden sogar 450‰ Innenkörper unklarer Genese festgestellt (17).

Die der Innenkörperbildung zugrunde liegenden Vorgänge dürften wie die Hämiglobinbildung oxydativer Natur sein. HEUBNER (22) sieht sie als das Ergebnis einer direkten oder indirekten Oxydation der Eiweißkomponente des Hämoglobins an, wobei es zu einer schlechteren Löslichkeit und stärkeren Färbbarkeit komme. Ältere Autoren, unter ihnen besonders MOESCHLIN (48) wollen sie sogar eng mit der Hämiglobinbildung in Zusammenhang bringen. Mag auch nur eine mittelbare Verbindung beider Erscheinungen bestehen (29), so läßt sich doch offenbar eine Übereinstimmung zwischen Hämiglobin- und Innenkörperbildung nicht leugnen, nämlich der oxydative Charakter der sie erzeugenden Einwirkungen (22).

Der Gedanke liegt daher nahe, die leichte Oxydierbarkeit des Blutfarbstoffes junger Säuglinge nicht nur auf die Besonderheiten des fetalen Hämoglobins und die Leistungsschwäche der Reduktionssysteme in den Erythrocyten zu beziehen, sondern sie ursächlich auch in Zusammenhang zu bringen mit einer verminderten Aktivität anderer Fermente, die den Blutfarbstoff vor oxydativen Noxen schützen. Diese Annahme erfährt insofern eine Unterstützung, als JONES und McCANCE (28) im Nabelschnurblut für mehrere Enzyme z.B. Cholinesterase, Carboanhydrase, Katalase u.a. eine deutliche Aktivitätssenkung finden konnten.

Über die Bedeutung der Katalase

Durch viele interessante Arbeiten zur Frage des fermentativen Oxydationsschutzes des Blutfarbstoffes wissen wir, daß besonders die oxydationshemmende Funktion der Katalase häufig diskutiert wurde. In der älteren und neueren Literatur fehlt es nicht an Stimmen, welche sie innerhalb der Blutzellen für einen wichtigen Schutz des Hämoglobins gegenüber ubiquitär freiwerdendem Wasserstoffsuperoxyd halten. Gesichert scheint der hemmende Einfluß der Katalase auf die Bildung von Verdoglobin aus dem Hb (11).

Unter den Theorien, welche die biologische Aufgabe der Katalase deuten wollen, lassen sich zwei prinzipiell verschiedene erkennen: Die eine hält an der katalatischen Funktion fest und erklärt sie als spezifischen Blutschutz vor toxischer Wirkung zelleigenen H_2O_2, die andere sieht in der Katalase einen Oxydationsüberträger, ein peroxydatisches Ferment. So behauptet z.B. THEORELL (64), daß Katalasen immer wie Peroxydasen wirken, da H_2O_2 im Gewebe nur gering vorkomme und auch energetisch die peroxydatische Enzymwirkung zweckmäßiger und einleuchtender sei. Ähnlicher Auffassung sind auch englische Autoren (30).

Die Schutztheorie hingegen ist verbunden mit den Namen HEUBNER (22), BINGOLD (6,7), LEMBERG und LEGGE (45), SUMNER und SOMERS (62), YAMAFUJI (70) u.a. Nach BINGOLD erweist sich die Katalase geradezu als spezifischer Schutz des Blutes, als "Blutschutzferment". Er konnte zeigen, daß sie das Blut gegenüber peroxydatischen Kräften unangetastet läßt, und daß ihre natürlich oder künstlich erwirkte Einbuße, d.h. die Minderung ihrer Aktivität, eine Oxydation des Hämoglobins durch zellbiologisch oder chemisch einwirkendes H_2O_2 zu Abbauprodukten bis zu Pentdyopent bewirkt. Für einen solchen Abbau war allein die Abtrennung des Apofermentes +) maßgebend (6).

+) Die Katalase, in ihrer Struktur von ZEILE und SUMNER aufgeklärt, enthält neben dem eiweißhaltigen Apoferment, als reagierendes, thermostabiles Coferment eisenhaltiges Fermenthämin. Verbindung beider ist Voraussetzung für volle Wirksamkeit (63). Bei einem Molekulargewicht von 248.000 und einem Fe-Gehalt von 0,09% kann angenommen werden, daß die Katalase 4 prosthetische Gruppen und 4 Atome Eisen besitzt (60).

Durch Wärmeausschaltung desselben bei 73°C kam er in späteren Versuchen (7) zu folgenden Ergebnissen:

1. Hb + Katalase (Holoferment) + H_2O_2 =
   = elementarer O_2 + H_2O + unzerstörtes Hb.
2. Hb + inaktivierte Katalase + H_2O_2 =
   = Pentdyopent + (fast) unzerstörtes H_2O_2.

D.h. die Katalaseschutzwirkung wird in diesem Experiment von einer oxydativ steigernden, peroxydatischen Wirkung abgelöst. Als Beweis, daß Körperzellen und auch Bakterien das Apoferment aus der Blutkatalase an sich reißen und so das Hämoglobin den Zellperoxyden schutzlos preisgeben, sollten u.a. nachstehende Versuche gelten: Durchströmt hämolysiertes Blut die Nierenarterie, so bleibt die volle Katalasewirkung erhalten. Nach Durchtritt durch die Nierenkanälchen des Parenchyms aber folgt:

3. Hb + H_2O_2 = Pentdyopent + H_2O_2-rest.

Die Katalase scheint verlorengegangen zu sein.
Bei bakteriologischen Testen ergaben sich ähnliche Resultate:

4. Blutagar + inaktivierte Katalase + Pneumokokkenkulturen, die als stark peroxydbildend beschrieben werden (2) =
   = Abbau bis Pentdyopent und Entfärbung, Eisenabspaltung aus der Hämkomponente mit Berlinerblaureaktion.
5. Blutagar mit Staphylokokken + Katalase (Holoferment) + H_2O_2 =
   = langsame Entfärbung, positive Eisen- und Pentdyopentreaktion.

Die Katalase scheint unwirksam, sie ist aber nur durch die Staphylokokken zu deren eigenen Schutz aus dem Nährboden herausgeholt worden.

BINGOLD kommt dadurch zu den Folgerungen, daß der Blutfarbstoffabbau unter Wirkung und Gegenwirkung von Katalase und Wasserstoffsuperoxyd vor sich gehe und biologisch gebildetes H_2O_2 katalaseungeschütztes Blut schlagartig vernichten könne. Ferner liege auch die Vermutung nahe, daß die Körperzelle wie das Nierenparenchym und die Staphylokokkenkulturen die Katalase dort an sich zieht, wo das überalterte Blut oxydativen Kräften anheim fallen soll.

Auch amerikanische und englische Autoren beschreiben eine derartige Schutzfunktion. Bei Versuchen mit und ohne Ausschaltung der Katalase durch Kaliumcyanid verfärbt sich im ersten Fall der Blutfarbstoff braun und grün, im letzteren bleibt er jedoch rot und unverändert

(62). Zugabe von Katalase zu katalasefreien Hb-Lösungen vermag diese gegen die gekoppelte Oxydation durch Askorbinsäure zu schützen. Ebenso verhindert das Zusetzen des Enzyms in anderen oxydierenden Systemen - etwa d-Aminosäureoxydase - einen Hämoglobinabbau. Diese Wirkung kann durch Säurezugabe aufgehoben werden (16).

Die Rolle der Katalase im Mechanismus der gekoppelten Oxydation des Hämoglobins und der Askorbinsäure untersuchte auch WLADIMIROV (69) und fand, daß in der Reaktionskette H_2O_2 einen entscheidenden Einfluß nehme. Es oxydiere das Hämoglobin zu Hämiglobin und intermediären Abbauprodukten. Diese wiederum beschleunigen die Oxydation des Vitamin C. Die Bedeutung der Katalase liege in der Verhinderung der Oxydation der verschiedenen Redoxkörper und eisentragenden Fermente durch H_2O_2.
In einer der zahlreichen weiteren Arbeiten wird auch die Bedeutung der Katalase und des zelleigenen Wasserstoffperoxydes in den terminalen Oxydationsvorgängen der Atmung gezeigt (70).

Zur Frage wie weit nun auch eine Abhängigkeit der Innenkörperbildung von der Katalasefunktion besteht, ist auf die Untersuchungen von HEUBNER und Mitarbeiter (22) einzugehen. Diese versuchten den entscheidenden Einfluß der Katalase zu zeigen, indem sie auf den oxydativen Charakter der Innenkörper erzeugenden Einwirkungen hinwiesen. Gaben von aromatischen Verbindungen, besonders Stickstoffverbindungen, können danach zur Entstehung zusätzlicher, unphysiologisch hoher Mengen Wasserstoffsuperoxyds in den Zellen, als einer der ursächlichen Faktoren der Innenkörper, führen. Auf der anderen Seite soll die Zufuhr dieser Verbindungen - besonders wenn sie längere Zeit erfolgt - über die reversible Hämiglobinbildung hinaus den Blutfarbstoff innerhalb der Erythrocyten zerstörend angreifen. Dies äußere sich chemisch im Auftreten von Verdochromogen (Verdoglobin), morphologisch aber, vermutlich infolge einer Veränderung am Eiweißrest und seiner verminderten Löslichkeit durch basische Farbstoffe, in Bildung von Innenkörpern.

Zu klären war jetzt, ob etwa die besonders in den roten Blutzellen als Blutschutz so aktive Katalase bei diesen Vorgängen aus irgendwelchen Gründen geschwächt oder ausgeschaltet würde. Versuche in dieser Richtung ließen erkennen, daß auch eine Hemmung der Katalasetätigkeit durch Innenkörper erzeugende Agenzien sicherstehe.

Die Blutgifte der aromatischen Reihe wie Anilin, Phenylhydroxylamin, Aminophenol, Nitrobenzol, Sulfanilamid u.a. sind auch Gifte für die Katalase, sodaß dadurch das Hämoglobin dem Angriff des H_2O_2 preisgegeben wird (54). Katalasehemmende Stoffe werden darüber hinaus von zahlreichen Autoren beschrieben (14, 25, 46, 66, 68).

HEUBNER schließt aus diesen Tatsachen auf einen qualitativen und nicht nur graduellen Unterschied zwischen normalem Abbau des Hämoglobins und dem durch Gifte herbeigeführten, "sodaß das Auftreten abnormer Blutstoffderivate und morphologischer Zellprodukte sehr verständlich sein dürfte".

Es werden nun gerade in jüngerer Zeit wieder viele Innenkörper erzeugende Einflüsse genannt, welche andererseits auch eine gesteigerte Hämiglobinbildung im Gefolge haben: So Anilin, Azetanilid, p-Aminophenol, Phenylhydrazin, Cryogenin, Maretin, Kalium chlorat. u.a. (22, 29). Daher ist zu überlegen, ob nicht für die Hämiglobin- und Innenkörperbildung Faktoren maßgebend sind, die mit der Funktion der Katalase ursächlich im Zusammenhang stehen. Hämiglobin- und Innenkörperbildung selbst gelten jedoch als Vorgänge, die keine direkte Abhängigkeit von einander besitzen (29).

Literaturzusammenfassung

Die Meinungen der verschiedenen Autoren lassen erkennen, daß die Frage der biologischen Aufgabe der Katalase zur Zeit noch nicht als gelöst betrachtet werden kann. Ihr Eingreifen in die verschiedenen Stoffwechselvorgänge, ja selbst ihre H_2O_2 spaltende Funktion bleibt problematisch. Unsere Untersuchungen werden insofern aber den verschiedenen Ansichten gerecht, als es einerlei sein sollte, ob die Katalase nun als Oxydationsschutz oder Oxydationsregler fungiert. Ihre Beziehungen zur Hämiglobin- und Innenkörperbildung können jedoch nach alldem für gesichert gelten. Da diese beiden Erscheinungen im frühen Kindesalter aber im besonderen Maße hervortreten, bleibt zu prüfen, wie weit eine Aktivitätsverminderung dieses Enzyms experimentell nachweisbar ist.

III. Methodik

Zur Aktivitätsbestimmung der Katalase

Die Katalase des Blutes war wegen ihres leicht darstellbaren H_2O_2-Spaltungsvermögens Objekt vielfältiger Untersuchungen. Es schien nahe zu liegen, ihre eigentliche Funktion in dieser Fähigkeit zu erblicken und in entsprechenden Testungen mit Wasserstoffsuperoxyd zu veranschaulichen.

Die ersten Überlegungen zur Kinetik dieser Reaktion wurden von SENTER (55) angestellt. Er wollte die Größe ihrer Zersetzungskraft stets in Form der monomolekularen Reaktion ausgedrückt sehen. Als Maß für die Aktivität der Katalase kann aber nur unter bestimmten Bedingungen die Reaktionskonstante k der monomolekularen Reaktion der H_2O_2-Zerlegung gelten. Die Forderungen für diese "monomolekulare", besser pseudo-monomolekulare Reaktion zu erfüllen ist insofern wünschenswert, als nur so nach dem Massenwirkungsgesetz das Maß für die Verminderung des Wasserstoffperoxyds seine jeweilige Konzentration darstellt. Die Bedingungen sind durch v. EULER und JOSEPHSON (13) angegeben mit 0,oo5 - 0,o15 mol. (ca = 0,17 - 0,51‰ oder ml/l) H_2O_2-Lösung; 0°C; m/150 Phosphatpuffer pH 6,8. Es gilt dann also die Formel (71):

$$(I) \qquad k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a - x}$$

wobei t die Zeit in Minuten, a die Anfangskonzentration des H_2O_2 und x die abgebaute H_2O_2-Menge ausdrückt.

Setzt man für a = Konzentration im Zeitpunkt Null Co und für a - x Anfangskonzentration minus zerlegte H_2O_2-Menge Ct, d.h. Konzentration des verbliebenen Wasserstoffsuperoxyds in irgend einem Zeitpunkt t, so lautet dieselbe Gleichung etwas übersichtlicher:

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{C\ H_2O_2\ (\text{zur Zeit } 0)}{C\ H_2O_2\ (\text{zur Zeit } t)} \qquad \text{bzw.}$$

$$(II) \qquad k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{Co}{Ct}$$

Die Ermittlung der Reaktionskonstanten k für den Zeitpunkt des Reaktionsbeginnes ermöglicht es, sich von allen unbekannten Größen unabhängig zu machen. Dazu trägt man die Reaktionskonstanten, die für passende Zeitintervalle nach obiger Gleichung errechnet worden

sind, in beliebigem Maßstabe gegen eine Zeitkoordinate auf und verlängert die Verbindungslinie der k-Werte - meist eine Gerade - bis zum Zeitpunkt O. Der so extrapolierte Wert k für to ist der Ausdruck der Enzymaktivität (71). Die einzelnen Reaktionskonstanten sollen dabei zum Zwecke möglichst hoher Genauigkeit nicht viel größer als 0,o4o und nicht kleiner als 0,o25 sein (62).

Die Konzentration des H_2O_2 in t kann bei bekanntem k unter der Annahme einer monomolekularen Reaktion bestimmt werden aus der Formel:

$$C\ H_2O_2\ (\text{zur Zeit t}) = C\ H_2O_2\ (\text{zur Zeit O})\ .\ e^{-kt}$$

oder

$$\text{(III)} \qquad Ct = Co\ .\ f\ .\ e^{-kt}$$

wobei f den Umrechnungsfaktor 2,3o2.. des natürlichen Logarithmus mit der Basis e auf den handlicheren Briggschen Logarithmus darstellt.

Die pseudo-monomolekulare Reaktion des H_2O_2-Abbaues durch Katalase geht nur dann nicht in eine bimolekulare Reaktion über, als Bedingungen erfüllt werden, die auch in den Faktoren der Enzymwirksamkeit (71) mit enthalten sind.

Abhängigkeiten der Katalaseaktivität

a) Substratkonzentration

Reaktionskinetische Berechnungen haben ergeben, daß sich der Verlauf der Katalasereaktion dann um so mehr dem Typus der monomolekularen Reaktion nähert, je geringer die Konzentration des H_2O_2 ist. Bei hohen H_2O_2-Konzentrationen dagegen werden Übergänge zur bimolekularen Reaktion erreicht und stark fallende Konstanten erhalten. Es besteht dann eine Abweichung von der Zeit-Umsatzregel - mit anderen Worten: Wenn eine Katalase in einer Zeiteinheit eine bestimmte Menge Wasserstoffsuperoxyd spaltet und eine zweite ein doppeltes Quantum, so ist diese nicht unbedingt doppelt so aktiv. Bei niederen Substratkonzentrationen bis etwa 0,o1 mol. (ca = 0,36‰ oder ml/l) jedoch besteht Proportionalität zwischen Umsatz und H_2O_2-Konzentration. Für vergleichende Messungen der Fermentwirkung ist deshalb niedere Substratkonzentration einzuhalten. Auch scheint es zweckmäßig die Versuchsdauer nicht über 30 Minuten auszudehnen.

b) Enzymkonzentration
Da mit steigender Fermentkonzentration eine starke Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit eintritt, die NOSAKA (51) klar formuliert hat, muß für Aktivitätsvergleiche durch geeignete Verdünnung der Enzymlösung auf möglichst ähnliche Enzymkonzentration in den Spaltansätzen gesehen werden (71). Bei Arbeiten mit Katalase in Substanz läßt sich das relativ leicht erreichen (62). Für klinische Zwecke war bisher die Bezugnahme auf die Erythrocytenzahl nach dem Versuche nach THIENEN (Katalaseindex) (65) und E.BACH (Spaltungsindex) (4) üblich.

c) Temperatur
Ein Ansteigen der Temperatur beschleunigt die Abbaureaktion und bringt gleichzeitig eine Aktivitätsschädigung des Fermentes, welche Unterschiede bei An- oder Abwesenheit und dem Grade der Verdünnung des Substrates zeigt. Als Temperaturoptimum gilt 0 - 2° (62, 71), eine Inaktivierung erfolgt bei 73°C (6).

d) Wasserstoffionenkonzentration
Als günstigster pH-Bereich mit der größten Katalasestabilität wird von vielen Autoren (62, 71) pH 6,8 - 7,o angesehen, Fermentzerstörung findet oberhalb pH 10,3 - 11 und unterhalb pH 5 statt.

e) Einfluß chemischer Agenzien
Unter anderen kommen hier höherkonzentrierte Salzlösungen, organische Fällungsmittel usw. in Frage, soweit sie den Kolloidzustand des Enzyms beeinflußen, ferner Schwermetallsalze, besonders Hg, Pb und Bi. Eine umfangreiche Literatur nennt viele weiteren Stoffe, unter ihnen auch Alkohol (14, 22, 25, 54, 46, 54, 66, 68, 71). Auch eine mechanische Schädigung der Katalase durch Schütteln, Filtern und dgl. ist möglich.

f) Einfluß des Entnahmeortes
Nach BISCHOFF (8) bestehen zwischen den verschiedenen Hautkapillargebieten Schwankungen der Katalaseaktivität um ± 10%, die sich sowohl in der Katalasezahl, als auch im Katalaseindex bemerkbar machen. Aus dem Ohrläppchen sind die Werte regelmäßig höher als aus dem Finger oder der Ferse.

Wege und Kritik zur Katalasebestimmung

Die Katalase des Blutes wurde nun im Laufe der Jahre zahlreichen Aktivitätsbestimmungen gegen Wasserstoffsuperoxyd unterworfen. Was die dabei angewendeten Methoden und Versuchsanordnungen betrifft, müssen sie in der Regel als recht uneinheitlich und gelegentlich als nur bedingt vergleichsfähig bezeichnet werden. Prinzipiell könnten für eine derartige Untersuchung folgende Wege in Betracht kommen:

1. Die Messung des durch die Enzymwirkung freigesetzten Sauerstoffs.
2. Die Titration des noch vorhandenen H_2O_2 mittels Jodometrie oder Permanganometrie.
3. Die Polarographie mit der Möglichkeit beide Werte gleichzeitig zu erfassen.

Die Methoden zur Bestimmung des Sauerstoffs, die in diesem Zusammenhang Verwendung finden, sind insofern nicht ganz spezifisch, als von der freigesetzten Gesamtmenge ein unbekannter kleiner Teil des O_2 im Probeansatz gelöst bleibt (2).

Mannigfache experimentelle Abänderungen hat die Möglichkeit der Titration mit Natriumthiosulfat oder Kaliumpermanganat erfahren (3, 4, 15, 50, 62, 71 u.a.), doch haben auch sie zu Einwänden Anlaß gegeben. So kann z.B. gegen die Jodometrie sprechen, daß ihre Reaktion ziemlich langsam abläuft und damit ein Fehler durch Luftoxydation des Jodwasserstoffs verbunden ist. Ferner besteht die Möglichkeit der Jodfreisetzung durch das Ferment selber (36, 71). Ob bei der Titration auch die O_2-Menge erfaßt wird, welche durch die H_2O_2-Zerlegung entsteht, ist für das $Na_2S_2O_3$ sicher zu bejahen. Damit gehen aber in das Ergebnis Werte eines Reaktionsproduktes ein, die mit zunehmender Versuchsdauer steigende Ungenauigkeit bedingen.

Bei der nur in sauerem Medium ausführbaren Titration mit $KMnO_4$ zeigen sich kleine Mengen organischer Substanzen störend, selbst oft solche, die zur Stabilisierung des Wasserstoffperoxydes unerläßlich sind. Im Falle ihrer Anwesenheit ist die Jodometrie vorzuziehen (36). Auch läßt die Schärfe des Umschlages zu "Zartrosa" gerade bei hohen Verdünnungen zu wünschen übrig (71). Da auch die Farbe nicht steht, kann je nach Titrationsgeschwindigkeit eine verschieden große Menge Meßlösung bis zum Endpunkt verbraucht werden.

Außerdem erweist sich das relativ schnelle Absinken des Titers gerade bei länger dauernden Reihenuntersuchungen als hinderlich. Eigene Proben haben ergeben, daß der Fehler der Einzelbestimmung nach der Methode von E. BACH (4), besonders ohne Blutzusatz, bei ihren Verdünnungen klein sein muß. Bei niedrigeren Konzentrationen ist dieser Weg aber nicht mehr gangbar. Unter den anderen Methoden dieser Art mag die Perboratmethode nach FEINSTEIN (15) gewisse Vorteile bieten.

Als dritter Weg ist nunmehr die Polarographie zu prüfen. Sie hat bereits Anwendung auf die Untersuchung der Katalaseaktivität gefunden. Unter anderen war es BRDICKA (10), welcher für Katalasepräparate charakteristische Stufen im Polarogramm fand. Die direkte polarographische Bestimmung ist indes nur ohne H_2O_2-Zusatz unter gewissen Bedingungen möglich. Da Katalase als ungeheuer wirksames Agens mit einer Umschlagzahl von 5 Mil. H_2O_2-Molekülen pro Enzymmolekül (nach O. WARBURG) in einer polarographischen Testung nur in minimaler Konzentration auftritt, entzieht sie sich dem direkten Nachweis.

Angeregt durch die Arbeiten dänischer und holländischer Autoren wie MOLLAND (49) und AUSSEN (2) über die Katalasewirksamkeit und H_2O_2-Produktion von Bakterien mit dem Polarographen schien der Gedanke seiner Anwendung gerade für die Untersuchung des kindlichen Blutes verlockend. Die Polarographie läßt die Fehler obiger Methoden vollkommen vermeiden. Sie ist absolut objektiv und gibt grundsätzlich die Möglichkeit die wahren H_2O_2-Abbaugrößen und die Menge des freiwerdenden Sauerstoffs nebeneinander in einem Arbeitsgang zu bestimmen. Daher wurde versucht die Bedingungen der Polarographie mit den Besonderheiten der Untersuchung kindlicher Blutkatalase in Einklang zu bringen und eine vorteilhafte Methode zu entwickeln.

Wesen des Polarographen

Die Polarographie wurde von HEYROVSKY 1925 in die analytische Chemie eingeführt. Heute stellt sie eine gebräuchliche, elektrochemische Arbeitsmethode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung elektrochemisch an einer Quecksilberkathode reduzierbarer Substanzen dar.

Ihre Grundlagen sind folgende: Leitet man durch eine Elektrolytlösung einen Strom, so erfahren die Ionen, welche die Träger des Stromflusses bilden, an den Elektroden eine Reduktion oder Oxydation. Der Strom beginnt erst zu fließen, wenn bei einer bestimmten Spannung diese Vorgänge einsetzen. Die Höhe des Potentials kennzeichnet dabei die Art des gelösten Stoffes und kann zu seiner qualitativen Bestimmung Anwendung finden.

Der Stromfluß (Strommenge) hängt nach den Faradayschen Gesetzen von den in der Zeiteinheit umgesetzten Teilchen ab und die Anzahl derselben wiederum von der Konzentration des elektrolysierten Stoffes. Gewöhnliche Elektroden werden bei diesen Vorgängen polarisiert, d.h. der Richtung des fließenden Stromes entgegengesetzt aufgeladen. Dadurch bleibt der Stromfluß nicht mehr proportional der Ionenkonzentration, sondern verringert sich mit zunehmender Polarisation. Man verwendet daher eine unpolarisierbare Elektrode, wie sie die tropfende Quecksilberelektrode darstellt, deren Oberfläche sich laufend erneuert. Die Anwesenheit eines zusätzlich im Überschuß vorhandenen, indifferenten Elektrolyten (Leitsalz) vermindert die Heranführung der zu bestimmenden Ionen an diese Kathodenoberfläche praktisch auf Null, da sich ein Mantel unentladener Leitsalzteilchen um jeden Hg-Tropfen legt und so den elektrischen Einfluß der Kathode abschirmt. Unabhängig von ihrer Ladung gelangen die zu bestimmenden Ionen allein durch Diffusion an die Elektrode, um hier sofort umgesetzt zu werden. Der fließende Strom ist ein reiner Diffusionsstrom und der Konzentration der gelösten Ionen proportional. Deswegen kann man ihn zur quantitativen Analyse heranziehen (37, 56).

Wird nun ein Strom kontinuierlich ansteigender Spannung über die Tropfkathode durch die Lösung geschickt, wobei als ruhende Bezugsanode der Hg-Spiegel am Boden des Elektrolysengefäßes dient, so ist es durch die elektrochemischen Eigenschaften des Quecksilbers im allgemeinen möglich, reduzierbare Substanzen sowohl qualitativ als auch quantitativ zu bestimmen. Nach Erreichung des charakteristischen Abscheidungspotentials eines Ions steigt die Stromstärke steil an, um bei noch weiter zunehmender Spannung schließlich spannungs-unabhängig zu werden. So entstehen Stufen oder "Wellen", von denen jede die Anwesenheit einer bestimmten reduzierbaren Ionenart anzeigt, während die Stufenplateaus Ausdruck der Stärke des Diffusionsstroms, bzw. der Konzentration des Stoffes sind (23, 37, 56).

Der Polarograph stellt nun ein Gerät dar, welches zur Registrierung dieser Vorgänge dient. Ein gleichmäßiger Anstieg der Stromspannung wird bei ihm mittels einer sich drehenden Potentiometerwalze erreicht. Die Stärke des Diffusionsstroms mißt ein Spiegelgalvanometer. Seine Ausschläge werden als Kurve auf einer mit der Potentiometerwalze synchron gekoppelten und von einem gemeinsamen Motor getriebenen Walze fotografisch oder durch Abdeckung aufgezeichnet.

Diese Methode hat besonderen Wert in all den Fällen, in denen grosse Verdünnung, kleine Menge und Eigenfarbe des Substrates eine Farbreaktion in Frage stellen. Ihre Genauigkeit wird von HEYROVSKY mit $\pm$ 2% bei Konzentrationen größer als 10^{-5}n und 80 mm Stufenhöhe angegeben. Die Empfindlichkeit geht so weit, daß noch Verdünnungen von 1 Grammäquivalent auf 10^5 - 10^6 Liter gute Resultate geben (23, 26).

Die quantitative, polarographische H_2O_2-Analyse

Vor Anwendung der Polarographie zur Testung der Katalasewirksamkeit in üblicher Form ist ihre Brauchbarkeit zur mengenmäßigen H_2O_2- und O_2-Bestimmung zu überprüfen:

Wasserstoffsuperoxyd gehört zu den Stoffen, deren Reduktionsfähigkeit an der Kathode seiner mangelnden Dissotiation wegen überrascht hat (24). Diese Reduktionsfähigkeit beruht im Prinzip wohl auf dem Vorgang:

$$H_2O_2 + 2\ e^- = 2\ OH^-.$$

Seine Analyse muß nicht unbedingt unter Luftabschluß erfolgen, doch sind dann besonders die Einflüsse des Luftsauerstoffes zu berücksichtigen (2, 24). Im saueren Milieu (pH 1) erzeugt Wasserstoffperoxyd bei - 0,8 Volt eine deutliche Stufe, in neutraler Lösung aber erst bei - 1,1 Volt (Fig. 1). Polarographiert man die "leere" Lösung vor dem H_2O_2-Zusatz, so läßt sich die Welle des in ihr gelösten Luftsauerstoffs gut erkennen. Es sind dem O_2 im Neutralen zwei polarographische Stufen genau gleicher Höhe eigen und zwar eine bei ungefähr - 0,4 und eine zweite zwischen - 0,9 bis - 1,3 Volt (Fig.1), im Saueren nur eine Stufe bei - 0,1 Volt (26). Die Stufenlage ist nebenbei von der Art und Konzentration des Leit-

salzes etwas abhängig, durch Hämoglobin u.ä. wird sie zu positiveren Potentialen verschoben (56). Die Stufenhöhe, die ja bei der quantitativen Analyse ganz besonders interessiert, wird außer von der Substratkonzentration noch von Momenten beeinflußt wie Tropfgeschwindigkeit der Elektrode, Temperatur, gelöste Kolloide, Zusatzelektrolyt u.s.w. (26, 56).

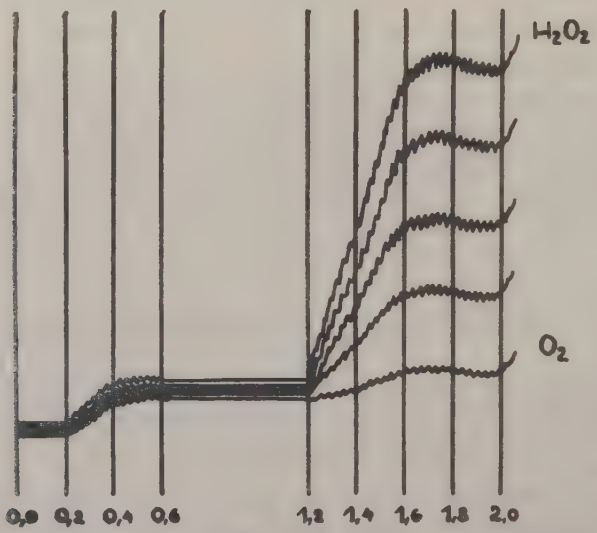


Fig. 1 Polarographische Stufen des O_2 und linear steigender Mengen H_2O_2. (E = 1/600; Meßbereich = 0,0 bis - 2,0 Volt).

Da sich bei der Bestimmung mehrerer Substanzen gleichen oder sehr ähnlichen Reduktionspotentials in einer Grundlösung ihre polarographischen Stufen addieren, darf bei einer quantitativen Messung nur der Teil der Gesamtstufe Berücksichtigung finden, welcher dem gesuchten Stoff entspricht.

Anderes Arbeiten ist fehlerhaft +). HEYROVSKY (24) hat die tatsäch-

---

+) So berücksichtigte Molland (49) bei der polarographischen Bestimmung bakterieller Katalase die Sauerstoffstufen nicht.

liche H_2O_2-Welle und damit die Konzentration direkt aus dem Vergleich beider O_2-Wellen bei "Leerlösung" mit der Gesamtstufenhöhe im H_2O_2-Reduktionsbereich errechnet:

Bei vollkommener Luftsättigung der Grundlösung entsprechen der Höhe der O_2-Doppelstufe h_1 8mg O_2 pro Lit.. Das ist gleich einer 0, ooo25 mol Lösung von O_2. Da H_2O_2 zur Reduktion nur der Hälfte Elektrizitätsmenge bedarf wie O_2, würde einer Stufenhöhe h_1 eine Konzentration von 0,ooo5 mol H_2O_2, d.h. 17 mg H_2O_2 pro Lit. äquivalent sein. Wenn nun im Bereich des H_2O_2-Diffusionsstromes die Stufe zu h_2 ansteigt, ist die Konzentration des H_2O_2 c durch den Unterschied $h_2 - h_1$ gegeben:

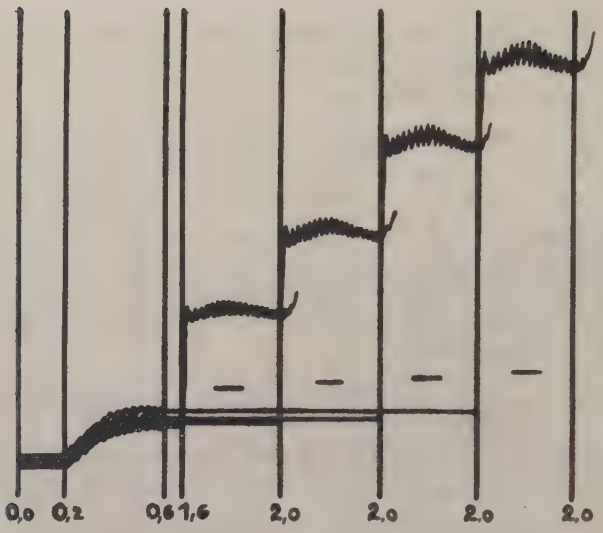
$$c = \frac{h_2 - h_1}{h_1} \cdot 0{,}0005 \text{ m } H_2O_2 = 0{,}0017 \cdot \frac{h_2 - h_1}{h_1} \text{ \% } H_2O_2.$$

Um das Verhältnis der Menge der "Leerlösung" zum Gesamtquantum nach Substratzugabe zu berücksichtigen, kommt noch ein Faktor $\frac{m}{a}$ hinzu:

$$c = \frac{h_2 - h_1}{h_1} \cdot \frac{m}{a} \cdot 0{,}0017 \text{ \% } H_2O_2.$$

Damit ist eine sofortige Ermittlung der Werte aus dem Polarogramm und eine Überprüfung der Ergebnisse der Eichung und Versuche möglich.

Einfacher und genauer ist es bei Reihenuntersuchungen mittels einer Eichkurve (Fig. 2) die Gesamtstufenhöhe bei verschiedenen, genau bekannten H_2O_2-Konzentrationen zu testen und von diesen unter Abzug der ermittelten O_2Doppelstufe ein Eichdiagramm (Fig. 3) herzustellen. Von diesem läßt sich nun für jede Stufenhöhe ebenfalls nach Abzug der O_2-Doppelstufe die wahre H_2O_2-Konzentration abgreifen. Eichdiagramme ersparen die Ausrechnung nach obiger Formel, das Schreiben von eigenen O_2- und H_2O_2-Wellen auf jedem Bestimmungsstreifen und ermöglichen ein einfaches, direktes Ablesen des vorhandenen H_2O_2-Quantums. Natürlich muß nach der Eichung ein Verschieben des Apparates und eine Änderung der Stufenhöhe vermieden werden. Da die H_2O_2-Konzentration des Substrats täglich - wie ermittelt - um ca 0,01 - 0,1‰ abnimmt und deshalb jeweils neu angesetzt werden muß, und weil auch Temperaturschwankungen ausgeschaltet werden müssen, ist es nötig regelmäßig Eichpolarogramme zu schreiben.



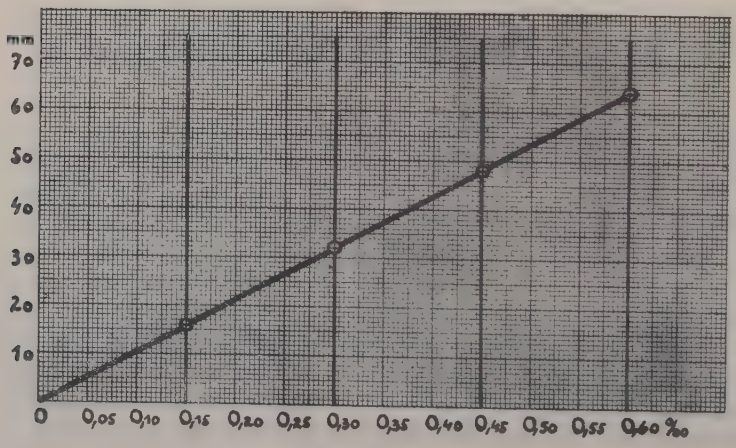


Fig. 2 Polarographische Eichkurve ("Schnappschuß-methode")

Fig. 3 Eichdiagramm (Stufenhöhe in mm/‰ H_2O_2)

Aus angeführten Gründen muß die Berücksichtigung der Sauerstoff-

konzentration im Elektrolysengefäß für unumgänglich gelten. Nun bleibt diese aber während eines H_2O_2-Abbaues nicht konstant, sondern steigt mit zunehmender Zersetzung an. Auch ist die gelöste Menge Luftsauerstoff durchaus nicht immer gleich groß. Wie gezeigt werden konnte, überschreitet die O_2-Konzentration unter der enzymatischen H_2O_2-Zerlegung den normalen O_2-Gehalt der Reaktionslösung oft um mehr als das Fünffache (2). Eine fehlerfreie H_2O_2-Bestimmung mittels Eichkurve ist daher nur möglich, wenn man die momentane Sauerstoffkonzentration in Abrechnung bringt. Da beide O_2-Stufen gleiche Höhe besitzen, die 2. aber in der H_2O_2-Stufe völlig untertaucht, kann man die 1. O_2-Welle bei jedem Polarogramm mitschreiben und messen, ihre Höhe verdoppeln und rein graphisch von der Gesamtstufenhöhe abziehen. Grundlinie ist dabei das Ausgangspotential 0 Volt. Die Meßlinie der Stufenhöhe läuft durch die Mitte der Oszillationen (2, 26, 56).

Bevor nun zur eigentlichen polarographischen Analyse geschritten werden kann, bedarf es noch der Wahl einer geeigneten Grundlösung, in welche der zu bestimmende Stoff eingebracht wird. Die Art des Leitsalzes, des sog. Zusatzelektrolyten, richtet sich nach dem Charakter des Depolarisators. Zweckmäßigerweise muß er ein ziemlich hohes, eigenes Reduktionspotential besitzen. Zur Dämpfung entstehender Maxima [+]) ist die Zugabe einer Dämpfersubstanz z.B. Tylose notwendig. Ein Zuviel führt dabei jedoch zu abgeflachten, verwaschenen Stufen. Bei Bestimmungen im neutralen Gebiet, speziell bei O_2 und H_2O_2 ist es darüberhinaus von Vorteil, einen Puffer zuzusetzen und dadurch Stufenverzerrung und schlechte Auswertbarkeit zu verhüten (56). Hohe Pufferkonzentration erübrigt die Verwendung eines Leitsalzes.

Nach Gegenüberstellung verschiedener Untersuchungsmethoden unter Berücksichtigung der Eigenheiten der Katalasewirksamkeit kommt man zu folgendem Urteil: Mängel der verschiedensten Art haften allen Bestimmungsmethoden an. Die meist übliche Titration sollte wohl der auf Seite 10 angeführten Gründe wegen besonders bei einmaliger Durchführung (50) als Näherungswert betrachtet werden. Mehrere maßanalytische Proben sind aber bei einer zeitgebundenen Reaktion und

---

[+]) Das sind steile Anstiege der Stromstärke über das durch Diffusion bewirkte Stufenniveau infolge Wirbelbildung an der Oberfläche des Quecksilbertropfens (26, 56).

kleiner zur Verfügung stehender Substanzmenge schwer durchführbar. Allen subjektiven Beurteilungen von Farbumschlägen oder sogar Farbnuancen ist ferner eine objektive Untersuchung vorzuziehen. Die gute Anwendbarkeit der Polarographie für die Aktivitätsbestimmung bakterieller Katalase ist darüberhinaus unter Beweis gestellt (2, 49).

Auf Grund dieser Erwägungen scheint auch für die Polarographie als Methode zur Prüfung der kindlichen Katalaseaktivität viel zu sprechen. Abgesehen davon, daß sie gerade für Reihenuntersuchungen eleganter und schneller ist, bietet sie sich besonders als exakte Mikromethode an. Im folgendem sind darum eigene präparatorische und methodische Erfahrungen bei ihrer Anwendung in eingehender Darstellung wiedergegeben.

Eigene Methodik

Die Untersuchungen fanden an Nabelvenenblut [+]) und Fingerbeerenblut gesunder Erwachsener (Frauen und Männern) und Kinder bis 1½ Jahren statt. Die benützte Blutmenge, 20 cmm wurde mit einer exakt geeichten Hb-Pipette stets vormittags entnommen, in ein Röhrchen, das 1 ccm 0,9%ige Kochsalzlösung enthielt, eingeblasen und sofort in einem doppelwandigen, mit Eis beschicktem Gefäße verwahrt. Nach Erledigung der nötigen Vorarbeiten erfolgte ihre Bestimmung möglichst frisch. Eine Ermittlung des Hb-Wertes, welcher bei der jeweiligen Verdünnung Berücksichtigung fand, wurde in üblicher Weise im Stufenphotometer nach Zeiss vorgenommen. Die Konzentration des Testsubstrates von 0,6 ‰ H_2O_2 (ml/l) wurde täglich neu eingestellt. Dies geschah durch Verdünnung von analysenreinem Perhydrol (Merck) auf Grund mehrerer jodometrischer Titrationen. In dieser Verdünnung waren stets 10 Hundertteile eines 1/150 m Sörensenpuffer von pH 6,8 enthalten (Kontrolle mittels Ultra-Jonometer der Firma Lautenschläger). Die Grundlösung zur polarographischen Bestimmung wurde aus 1/10 m NaCl-Lösung (Zersetzungsspannung - 2,2 Volt) unter Zusatz von 15 Hundertteilen einer 1 %igen Aufschwemmung von trockener Tylose für polarographische Zwecke (Firma Leybold Köln) bereitet. Aus dem Eisgefäß wurde die Blutprobe in eine ihrem Hb-Wert proportionale Menge Aqua dest. gebracht, welche in einem Eisbad (ca 0 - 2°C) vor-

[+]) Herrn Prof. Dr. K. Burger, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Würzburg, bin ich für Überlassung des Nabelvenenblutes zu Dank verpflichtet.

bereitet war, und hier Hämolyse erzeugt. Dabei wurden für 100% Hb --- 50 ccm, für 90% Hb --- 45 ccm, für 80% Hb --- 40 ccm u.s.w. Verdünnungsflüssigkeit zugrunde gelegt. Sinngemäßes galt für Zwischenwerte und Werte über 100% Hb. Genau nach 1 Minute mußte 1 ccm dieser Verdünnung in das ebenfalls im Eisbad stehende, mit 10 ccm gepufferter 0, 6 ‰ iger H_2O_2-Lösung beschickte Reaktionsgefäß eingebracht werden. Die Verdünnung der Blutprobe stand somit bei der Reaktion in einem Verhältnis von 1 : 25.ooo. In Zeitabständen von 2, 10, 20, 30 Minuten wurden nun jeweils 2 ccm des Reaktionsgemisches entnommen, in die bereitstehende Grundlösung pipettiert, gut durchgeschüttelt und polarographisch bestimmt. Verwendung fand der große Polarograph Modell 35a der Firma Leybold Köln +). Bei seiner Einstellung wurden folgende Werte gewählt: 4 Volt Meßspannung, Empfindlichkeit E = 1/600, Elektrodentropfgeschwindigkeit = 1 Tropf./ 3 Sek.. Die Raumtemperatur war mit 21 - 22°C annähernd konstant. Unter der Verwendung der sog. "Schnappschußmethode" (49) wurden für die Reihenuntersuchungen die interessierenden Bereiche von 0,o bis - 0,6 und von - 1,6 bis - 2,o Volt aufgenommen. Täglich wurde ein Eichpolarogramm bei analogen Bedingungen geschrieben. Dabei mußte das fehlende Blutquantum in der "Reaktionslösung" durch Zusatz von 1 ccm Aqua dest. berücksichtigt und aus ihr durch Entnahme von 2, 1 1/2, 1 und 1/2 ccm eine Verdünnungsreihe genau linear abfallender Konzentration hergestellt werden. Ein Ausgleich zu 2 ccm erfolgte nochmals mit Aqua dest.. Auswertung und Berechnung der Ergebnisse geschah in der an anderer Stelle beschriebenen Art.

IV. Diskussion der Methode

Das Problem der Konzentrationen

Der oben beschriebene Untersuchungsgang ist das Resultat folgender Überlegungen und Probeuntersuchungen: Als Grundlage dienten zuerst die Bedingungen der Methode nach E. BACH (4), die in ihren Konzentrationen den Gegebenheiten für polarographisches Arbeiten günstig schien (0°C; 0,34 ‰ H_2O_2; Meßzeiten: 5, 10, 15, 20 Min.). Ein fast völliger Abbau des H_2O_2 war nach 20 Minuten klar zu erkennen. Bald jedoch zeigten sich Hindernisse infolge der Eigenheiten des Polaro-

---

+) Herrn Prof. Dr. G. FISCHER, Vorstand des Chemischen Institutes Würzburg, und Assistenten gebührt für großzügigste Unterstützung und Arbeitsmöglichkeit im Chemischen Institut besonderer Dank.

graphen. Die H_2O_2-Konzentration war im Verhältnis zur Konzentration des Sauerstoffs etwas zu klein, um gut verwertbare Kurven zu geben. Wollte man einen Ausgleich durch Verwendung einer größeren Empfindlichkeit E schaffen, wäre die Höhe der H_2O_2-Stufe durch die Stufe des Sauerstoffs verdrängt und somit erst recht eine genaue Auswertung in Frage gestellt worden. Eine Bestimmung des Wasserstoffperoxyds bei größerer Empfindlichkeit setzt die Entlüftung der Lösung mit Stickstoff vor jeder polarographischen Untersuchung voraus. Diese Möglichkeit konnte jedoch nicht benützt werden, da erstens die Entlüftung eine gewisse Zeit braucht und zweitens während der Reaktion laufend neuer Sauerstoff durch H_2O_2-Zersetzung entsteht.

Die an sich idealste Methode der gleichzeitigen Bestimmung des noch vorhandenen H_2O_2 und des freigesetzten O_2 stieß auf folgende Schwierigkeiten: Bei der üblichen polarographischen Versuchsanordnung würde ein unbekannter Teil des entstehenden O_2 an die Atmosphäre abgegeben. Sofern man den Sauerstoff trotzdem bestimmen wollte, wäre es notwendig in einem Volumen zu arbeiten, das an keiner Stelle eine Grenzfläche mit einem Gas hat. Das jedoch ist apparativ äußerst schwierig durchzuführen. Auch wäre die H_2O_2-Konzentration so niedrig zu wählen, daß der sich bildende Sauerstoff restlos in der Flüssigkeit gelöst bleibt.

Gegenüber der Arbeit von E BACH (4) erschien es nun für vorliegende Untersuchungen aus verschiedenen Gründen zweckmäßig die Wasserstoffsuperoxyd- und Blutkonzentration etwas zu steigern und die Reaktionsdauer auf 30 Minuten zu verlängern.

Zur Bestimmung der Aktivitätsgröße der Katalase, unter der Annahme verschiedener Konzentration derselben, wäre nämlich prinzipiell neben der Ermittlung der H_2O_2-Zersetzungsgeschwindigkeit (Reaktionskonstante) auch die Zerstörung der Katalase durch H_2O_2 zu benutzen. Die Zerstörungsgeschwindigkeit der Katalase steigt mit der H_2O_2-Konzentration der Lösung an. Bezieht man auf eine konstante H_2O_2-Konzentration und läßt eine bestimmte Menge Enzym damit reagieren, so wäre das zersetzte Quantum Wasserstoffperoxyd der Enzymkonzentration proportional (71). Anfänglich wurde versucht die Bestimmungen auch auf dieser Grundlage aufzubauen. Darum schien es angebracht einen H_2O_2-Restwert zu behalten, um zu erkennen, daß sämtliche, vorhandene Katalase zerstört worden war. In der Regel erwies sich jetzt auch die Reaktion nach 30 Minuten als nahezu abgelaufen.

Für die vorliegenden Untersuchungen hat die Konzentration der Katalase vorerst sekundäre Bedeutung. Wichtiger ist es zunächst ihre Gesamtaktivität zu erfassen, welche sich ja außer auf unterschiedliche Konzentration, auch auf eine differente Wirksamkeit oder auf Artunterschiede der Katalase zurückführen läßt. Zu dieser Bestimmung jedoch werden - wie beschrieben - nicht die umgesetzten H_2O_2-Mengen, sondern die Reaktionskonstanten einzelner Zeitpunkte herangezogen. Dazu muß man möglichst im Bereich einer monomolekularen bzw. pseudo-monomolekularen Reaktion bleiben, die besonders in den ersten Minuten der Reaktion gegeben ist. Statt späterer Meßpunkte schien es daher zweckmäßig einen 2-Minutenwert zu wählen, der den Bereich des größten Abbaus treffen sollte.

Unter der Annahme dieser monomolekularen Reaktion ohne Katalasezerstörung wäre der Reaktionsverlauf durch folgende Formel auszudrücken:

(III) $$Ct = Co \cdot e^{-kt}$$

C die H_2O_2-Konzentration für den Zeitpunkt t ergibt sich nach der Ermittlung von k mehrerer Meßpunkte und der Anfangskonzentration Co unter Umrechnung der H_2O_2-Konzentration auf Mol pro Liter. So nämlich ist die maximale Annäherung einer Kurve, die zeitabhängig die verbliebenen H_2O_2-Mengen darstellt, an die Zeitabszisse charakterisiert (71).

Es ließe sich vermuten, daß die Reaktion auch bei anderen Konzentrationen, z.B. höheren, hätte ablaufen können und die Abstimmung für polarographische Zwecke erst in der Grundlösung hätte erfolgen können - in diesem Fall durch entsprechende Verdünnung -. Dem steht aber gegenüber, daß die Abbaugrößen im Bereich der polarographischen Stufe bleiben müssen, d.h. die Abbauunterschiede wären so groß geworden, daß sie mit einer polarographischen Kurve und Empfindlichkeit nicht mehr erfaßbar gewesen wären. Bei niederen Konzentrationen werden, wie schon gezeigt, die Unterschiede der in den einzelnen Zeitpunkten gespaltenen Wasserstoffsuperoxydmengen kleiner, die Abweichungen aber bedeutend höher.

Neben diesen Fragen beschäftigte das Problem des Konzentrationsausgleiches der Katalase in den Erythrocyten der einzelnen Proben. Entsprechend dem unterschiedlichen Hb-Gehalt ist wohl für die Blutzellen auch eine verschiedene Beladung mit Katalase anzunehmen. Die in

klinischen Untersuchungen übliche Bezugnahme auf die Erythrocytenzahl scheint daher nicht voll berechtigt. JONES und McCANCE (28) haben gezeigt, wie sinnvoll es ist, die Katalaseaktivität auf den Eisengehalt des Blutes zu beziehen. Da hierdurch eine gewisse Korrelation zum Hämoglobin gegeben ist, läßt sich wohl einfach die Katalasekonzentration von der Hb-Menge in Abhängigkeit bringen. Auch Angaben von ZEILE (71) weisen in diese Richtung. Für die Untersuchungen im jetzigen Rahmen liegt das umso näher, als gerade die Wirkung der Katalase am Hämoglobin ansetzen soll und ihre Konzentration und Aktivität besonders dem Hb gegenüber interessiert. Durch Berücksichtigung der Hb-Konzentration werden einheitliche Versuchsbedingungen geschaffen. Es wurden daher bei der Herstellung der Ansätze die Blutfarbstoffwerte in Prozent stets dem Verdünnungsgrade des Blutes zugrunde gelegt. So enthielten alle Blutverdünnungen die gleiche Hb-Konzentration, was durch dieselbe strohgelbe Farbe schon rein äußerlich gekennzeichnet schien. Durch Einbeziehen der Hb-Prozentzahlen in die Untersuchung dieses Wasserstoffperoxyd spaltenden Ferments aber ist die Genauigkeit der Hb-Bestimmung ein Teilfaktor der richtigen Aktivitätserfassung geworden. Fehlerhafte Bestimmungen mit unzulänglichen Geräten (Sahli-Hämometer) führen zu relativ großen Abbauunterschieden.

Die Reaktionslösung

Nach erfolgtem Konzentrationsausgleich wurde die Verdünnung in das Wasserstoffsuperoxyd eingebracht. Die Schwierigkeiten der Bereitung dieser H_2O_2-Lösung bestanden allein in der genauen Einstellung der nunmehr mit 0,6 ‰ festgelegten Ausgangskonzentration. Da die Stammlösung täglich, wie festgestellt wurde, etwas in der Konzentration zurückging, mußte die als Substrat verwendete Menge jedesmal neu bereitet werden. Dies geschah durch Titration gegen n/10 Natriumthiosulfat und Weiterverdünnung auf die gewünschte Konzentration. Eventuelle Schwankungen wurden durch die Eichung des Polarographen ausgeschaltet.

Wenn man die Katalaseaktivität in dieser herkömmlichen Weise mit Wasserstoffperoxyd bestimmt, muß man sich darüber klar sein, daß ihre Aufgabe, H_2O_2 im Gewebe zu zersetzen, von manchen Seiten angezweifelt wird. Zumindest ist diese Funktion, welche man hierbei zu testen glaubt, noch reichlich ungeklärt. Auch muß man in Betracht ziehen, daß im Gesamtblut neben der Katalase auch andere katala-

tisch oder peroxydatisch wirkende Faktoren enthalten sind, deren Tätigkeit in diesen Ergebnissen Eingang finden. Zu diesen wasserstoffperoxydspaltenden Elementen gehört u.a. Peroxydase, Hämin und Hämoglobin, welches sowohl katalatisch, als auch peroxydatisch wirken kann. Eine gesonderte Untersuchung und Trennung würde aber größte methodische Schwierigkeiten mit sich bringen, da z.B. schon die Abtrennung der Peroxydase von anderen Häminderivaten nicht ganz durchführbar ist (63). Davon abgesehen dürften diese Substanzen für vorliegende Untersuchungen rein anteils- und wirkungsmäßig untergeordnete Bedeutung haben. Prinzipiell aber sind die weiter unten beschriebenen Werte die Summe aller peroxydatischen und katalatischen Wirkungen des Blutes.

Aus diesem Grunde schien es auch unnütz, eine getrennte Bestimmung der Erythrocyten- und Serumkatalase vorzunehmen, obwohl eigentlich nur die Verhältnisse in den roten Blutzellen interessierten. Es wäre dies durch Waschen der Erythrocyten (d.h. wiederholtes Aufschwemmen und Sedimentieren) leicht durchführbar gewesen. Die Konzentration der Katalase erreicht jedoch bei allen Säugern in den Erythrocyten und in der Leber ihre höchsten Werte (62), sodaß die Serumkatalase vernachlässigt werden konnte.

Unklar bleibt unter allen Umständen, ob diese Versuchsbedingungen den physiologischen Größen und Abläufen auch nur annährend gerecht werden, und ob überhaupt ein den Verhältnissen in vivo vergleichbares Bild vermittelt wird. Steht doch z.B. schon fest, daß allein bei der Hämolyse viel von der ursprünglichen Wirksamkeit der Fermentsysteme in den Erythrocyten verloren geht (33).

Im weiteren Verlauf des Arbeitsganges wird das Reaktionsgemisch zu genau festgelegten Zeiten in die Grundlösung pipettiert. Danach muß unbedingt einmal durchgeschüttelt werden, da die zugesetzte Tylose eine schnelle gleichmäßige Verteilung hemmt und durch Konzentrationsunterschiede im Gefäß unrichtige Stufenhöhen im Polarogramm entstehen können. Die Abbaureaktion wird durch das Einbringen in die Lösung unterbrochen. Proben über die Zeit der Untersuchung haben das bestätigt. Als Ursache dafür dürfte evtl. die Inaktivierung des Enzyms durch nochmalige Verdünnung als auch die Tyloseeinwirkung gelten (Adsorption?). Nur bei der sofort nach Reaktionsbeginn entnommenen Menge findet noch in den ersten 10 Minuten ein geringes Absinken der H_2O_2-Konzentration bis zu 0,02 ‰ , das entspricht un-

gefähr 2 mm Stufenhöhe, statt. Vollkommenes Abstoppen der Reaktion mit Schwefelsäure, wie es bei den anderen titrimetrischen Formen der Bestimmung geübt wird, ist bei der polarographischen nicht möglich. Obwohl H_2SO_4 selbst keine Stromspannungskurve erzeugt, verschiebt es doch das pH, welches ja für die Stufenlage außerordentlich maßgebend ist. Da aber die einzelnen Bestimmungen sofort und in gleichen Zeitintervallen erfolgen, wiegt das nicht so schwer.

Das Polarogramm

Die beste Aufnahmetechnik bei Reihenuntersuchungen ist die sehr zeitsparende sog. "Schnappschußmethode" (2). Diese Bezeichnung würde eigentlich mehr für das polarometrische Verfahren, einer Punktaufnahme einzelner Potentialhöhen bei schwingungsgedämpften Galvanometer mit dem Vorteil $\pm$ 0,2%iger Genauigkeit (56) zutreffen. Hier aber wird wegen geringer Stufenschwankung in den interessierenden Bezirken ein Kurventeilstück der Reduktionspotentiale geschrieben. Wichtig ist es auch so jedesmal die Sauerstoffwerte zu registrieren und mit zu berechnen. Am Anfang der Reaktion steigen diese durch ständige Peroxydzerlegung laufend an. Im Polarogramm ist dieser Vorgang sofort, noch ehe äußerlich Gasbläschen in der Lösung wahrzunehmen sind, durch einen jähen Sauerstoffsprung gekennzeichnet. Das Maximum der O_2-Sättigung der Lösung wird nach ca 10 - 20 Minuten erreicht. Für die polarographische Aufnahme wurde eine mittlere Empfindlichkeit gewählt, einerseits klein genug, um möglichst hohe Abbauunterschiede noch zu erfassen, andererseits groß genug, um die Fehler bei der Ablesung niedrig zu halten. Geeignet erschien E = 1/600, der bei einer sehr gut auswertbaren Gesamtstufenhöhe von 70 - 80 mm die Konzentration von 0,6 ‰ gerecht wurde.

Der Gedanke lag ferner nahe, die polarographische Bestimmung direkt im Reaktionsgefäß vorzunehmen und in ganz kurzen Zeitabständen Kurven zu schreiben. Dem stand aber unter anderem die Wärmekonvektion im Gefäß bei $0^{\circ}C$, welche eine geregelte Diffusion stören mußte, und der Tylosezusatz entgegen. Nicht zuletzt war auch zu berücksichtigen, daß die dabei in höheren Konzentrationen vorhandenen Eiweißkörper des Blutes Veränderungen an den Stufen verursachten. Durch sie wird die Größe des Diffusionsstromes sowohl im Sinne einer Verminderung, als auch gelegentlich einer Erhöhung beeinflußt. Unter be-

stimmten Umständen bilden die verdünnten Lösungen gewöhnlicher Proteine, wie Blutserum, Eialbumin usw., im Bereich um - 1,6 Volt Stufen mit charakteristischer Doppelwelle +) (23), welche hauptsächlich dem Cystein und seiner Sulfhydrylgruppe zuzuschreiben ist (9). Ferner werden durch proteolytische Eiweißspaltung die polarographisch wirksamen Gruppen frei und die Doppelstufe noch weiter erhöht (24). Auch dieser Effekt, der bei höherer Konzentration und Empfindlichkeit, besonders aber in ammoniakalischer Kobaltlösung sehr deutlich ist, mußte vermieden werden.

Fehlerdiskussion

Es liegt im Wesen der Mikromethoden begründet, etwas größere Streuungen zu besitzen, da bei kleineren Mengen höhere Meßfehler entstehen. Durch eine präzise Methodik und durch eine möglichst große Zahl von Bestimmungen, die zu einem Durchschnittswert zusammengefaßt werden, ist dem zu begegnen. Die Genauigkeit der polarographischen Methode wird mit ± 2 % (23) angegeben. Pipettierfehler sind darin enthalten. Es wurde stets versucht, vor allem bei wiederholten Entnahmen, mit möglichst großen Mengen zu arbeiten. Selbstverständlich war die Eichung der Pipetten und ihre regelmäßige Reinigung mit Bichromat-Schwefelsäure. Die Ermittlung der Hämoglobinwerte erfolgte mit dem Stufenphotometer nach Zeiss, dessen Fehlergrenze unterschiedlich beurteilt wird. Doch dürfte sie bei gewissenhafter Bestimmung eines Wertes aus mehreren Einstellungen nicht sehr hoch liegen. Die Entnahme der verschiedenen Blutproben läßt einen methodischen Fehler offenbar auch ausschließen. Sie erfolgte nämlich völlig unsystematisch, indem eine Gruppierung nach den diversen Gesichtspunkten erst später bei der Auswertung stattfand.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde an Einzelbestimmungen überprüft. Bei hitzeinaktivierten Reaktionsproben und Leerlösungen ergaben sich gleiche Werte mit einer Maximalabweichung von 0,012 ‰, die einer Genauigkeit von ± 2% entsprechen. Dies stimmt mit den zu erwartenden Größen überein. Bei Aktivitätsbestimmungen der Katalase am Blut eines bestimmten Individuums zu verschiedenen Tagen zeigte

+) Im Nachweis verschiedener Eiweißreduktionpotentiale beruht auch die polarographische Krebsreaktion.

sich eine durchschnittliche Schwankungsbreite von ± 7,7% gleich 40 KAE. Das liegt niedriger als die in der Literatur für Einzelpersonen angegebenen physiologischen Aktivitätsschwankungen der Blutkatalase (3, 8).

Um die Genauigkeit der Resultate noch weiter zu steigern, wurde darüberhinaus eine möglichst große Zahl von Untersuchungen vorgenommen. Die Teilergebnisse setzen sich aus wenigstens 10, meist sogar 20 Einzelbestimmungen zusammen. Nur ausnahmsweise wurde zum Vergleich mit früheren Angaben aus 6 Werten ein Teilergebnis errechnet. Die Endwerte dieser aber vereinen wieder 4 solche Teilergebnisse in sich, um eine Aktivitätsgröße der Katalase zu charakterisieren.

Bei den im folgenden nun beschriebenen Endergebnissen ist lediglich noch zu bedenken, daß zum Zwecke der graphischen Darstellung und Auswertung der Eichdiagramme einfachheitshalber 0,6 ‰ H_2O_2-Lösung an Stelle der tatsächlichen Ausgangskonzentration von 0,545 ‰ angenommen wurde. Dies entstand durch Zusatz von 1 ccm Blutverdünnung zu 10 ccm 0,6 ‰igem Substrat. Sollten absolute Größenangaben des Abbaues interessieren, sind sie leicht durch Multiplikation der angegebenen Prozentzahlen mit einem Faktor r = 0,909 zu erhalten. Für das Gesamtbild der Untersuchungen und natürlich auch für ihre Genauigkeit und Vergleichsfähigkeit ist dies aber völlig bedeutungslos.

V. Versuchsergebnisse

Auswertung der Kurven

Die nach obiger Methode durchgeführten Untersuchungen lieferten polarographische Kurven, welche die Vorgänge der Reaktion im Katalase-Substrat-Gemisch zu bestimmten Zeitpunkten veranschaulichen. Die Stufenhöhen charakterisieren die gesuchte Größe des Wasserstoffperoxydabfalls und die Zunahme der Sauerstoffkonzentration. Von einem Grundstromniveau steigen die in der Fig. 4 ineinander geschriebenen Sauerstoffwellen am Anfang des Polarogramms auf. Dabei folgt dem noch relativ niedrigen 2-Minutenwert das Maximum der O_2-Sättigung bei 10 - 20 Minuten. Durch Aufperlen von Sauerstoff im Augenblick der Sättigung der Lösung, sowie auch infolge der Entnahmen liegen die späteren

polarographischen Stufen wieder tiefer. Die hohen, hintereinander geschriebenen Kurvenplateaus sind Ausdruck der Summe von Wasserstoffperoxydstufe plus doppelter O_2-Stufe. Sie zeigen zu den einzelnen Meßzeiten immer weiter fallende Werte. Um nun die Menge des H_2O_2 allein zu ermitteln, wird der Abstand Grundstrom - erster Sauerstoffgrenzstrom auf das Niveau des letzteren nochmals aufgetragen und die

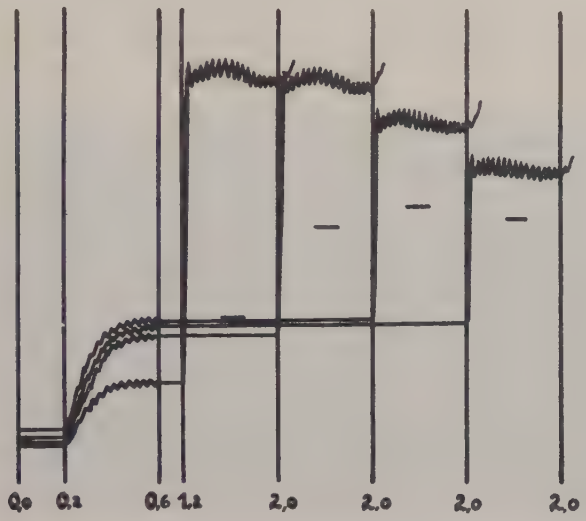


Fig. 4 Polarogramm einer H_2O_2-Spaltung durch Katalase.

Reststrecke bis zur Gesamtstufenhöhe gemessen. Sie entspricht der gesuchten H_2O_2-Konzentration, deren Zahlenwert in Promille aus dem für diese Bestimmung gezeichneten Eichdiagramm abzugreifen ist.

Berechnung der Ergebnisse

Werden die für die einzelnen Zeitpunkte ermittelten Restmengen des Wasserstoffperoxyds in Promille in einem Schaubild gegen die Zeit aufgetragen, so ergeben sie eine monoton fallende Kurve. Diese nähert sich ständig der Abszisse als Zeitachse und läuft ihr bei 30 Minuten fast parallel (Fig. 5). Ein solches Bild entspricht den Kurven logarithmischer Funktion, wie sie bei vielen biologischen Abbau-

prozessen zu finden sind. Durch Umzeichnen auf ein einfachlogarithmisches Koordinatensystem ist es möglich, sie in eine Gerade überzuführen.

Auch für die meisten unserer Kurven läßt sich das sehr gut bewerkstelligen. Damit wäre aber die Gleichmäßigkeit des Reaktionsablaufes und eine Zeitunabhängigkeit desselben charakterisiert. Für die Reaktionskonstante als Kriterium der Reaktionsgeschwindigkeit mag das als Beweis ihrer Unabhängigkeit von der Zeit angesehen werden.

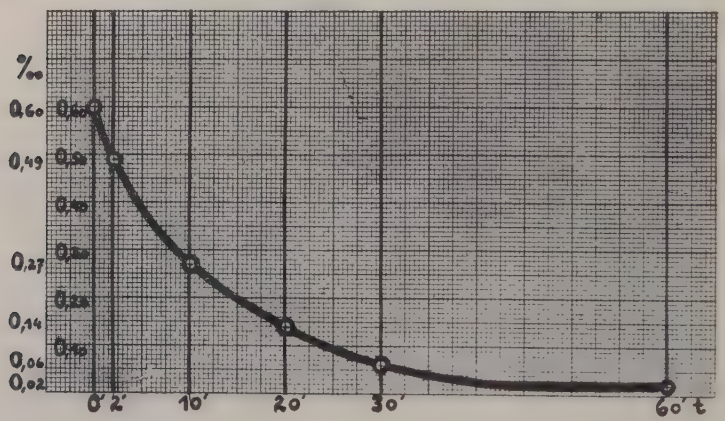


Fig. 5 Konzentr.-Zeit-Diagramm des enzymatischen Substratabbaus.

Aus alldem aber ernellt, daß der Ansatz einer pseudomonomolekularen Reaktion für unsere Versuche prinzipiell gerechtfertigt ist. Die oben genannte Gleichung für die Reaktionskonstante k der monomolekularen Reaktion der H_2O_2-Zerlegung

$$(II) \qquad k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{Co}{Ct}$$

kann somit auch auf diese Versuche Anwendung finden. Das Maß für die gesuchte Katalaseaktivität jedoch ist in der Größe der Reaktionskonstanten des Zeitpunktes Null gegeben.

Man errechnet darum die k-Werte für die verschiedenen Meßpunkte durch

Einsetzen der zugehörigen, gefundenen H_2O_2-Konzentration in die obengenannte Formel. Diese k-Werte werden dann für die einzelnen Zeiten in ein Koordinatensystem aufgetragen und durch Extrapolation die Grösse der Reaktionskonstante für to ermittelt. Die Verbindungslinie bildet - wie erwartet - in der Regel eine Gerade.

Infolge der Eigenheiten des Materials ergeben sich bei biologischen Experimenten nie absolute Werte. Diesen jedoch möglichst nahe zu kommen, muß das Ziel jeder Untersuchung sein. Es wurde darum ver-

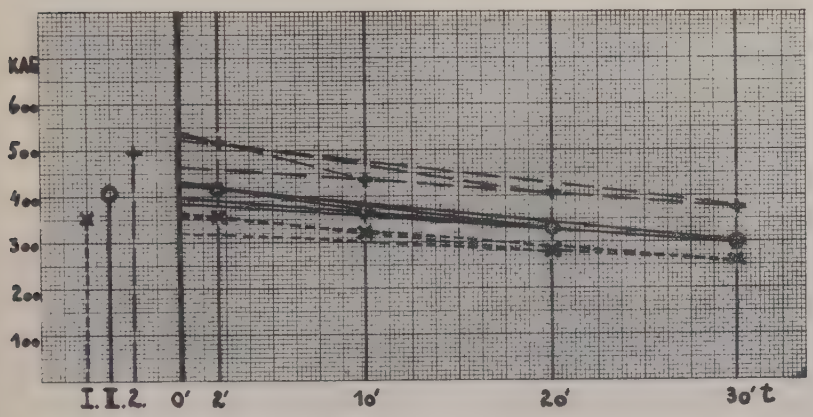


Fig. 6 Beispiel einer graphischen Katalaseaktivitäts-Bestimmung durch Extrapolation (Werte d. I. u. II. Trim. und 2. Halbjhr. / Orig. Din A 4)

sucht, die Größe der Reaktionskonstante zum Zeitpunkt Null durch Extrapolieren aus den einzelnen errechneten Punkten im Diagramm als Geradenbüschel in den Fällen darzustellen, in welchen sich eine Gerade nicht ganz verwirklichen ließ. Ihr Mittelwert dürfte sehr weitgehend dem absoluten Maße der Konstanten k in to nahekommen. Auf den Wert der sog. "besten Geraden" wurde somit aus Genauigkeitsgründen lieber verzichtet. Der Schnittpunkt der Geraden oder des Mittelwertes eines Geradenbüschels mit der Ordinate bezeichnet den gesuchten Aktivitätsgrad der jeweiligen Probe. Er kann beliebig zu Bezugs- und Vergleichszwecken benutzt werden (Fig. 6).

Der gesamte Auswertungsgang ist demnach folgender:
Die mit dem Polarographen für bestimmte Zeitintervalle ermittelten Stufenhöhen werden unter Abzug der doppelten O_2-Stufe (sog. korrigierte Methode) genau abgemessen und im Eichdiagramm der ihnen entsprechende ‰-Wert zugeordnet. Ein Durchschnitt aus 10 solchen Bestimmungen für je 4 Zeitpunkte errechnet und in obige Gleichung eingesetzt, ergibt die entsprechende Reaktionskonstante. Wird nun der Wert im Zeit-Konstanten-Diagramm aufgetragen und nach to extrapoliert, so bezeichnet der Schnittpunkt den gesuchten Grad der Kataleaseaktivität.

Um die Wirksamkeit der verschiedenen Fermentproben unter einander vergleichen zu können, ist die Bezugnahme auf einen Normwert unerläßlich. Zu diesem Zwecke wurden 40 gesunde Erwachsene (Männer und Frauen) untersucht und der Durchschnittsbefund ihrer Katalaseaktivität als Normwert aufgestellt. Es errechnet sich dabei die mittlere Reaktionskonstante mit 0,o525. Für unsere Untersuchungen wird 525 willkürlich als Grundlage der Katalase-Aktivitäts-Einheit (KAE) festgelegt und wir sagen: 525 KAE ist jene Größe, welche bei 0,6‰ H_2O_2-Konzentration, 0° C und einer Blutverdünnung 1 : 25.ooo sich als 1o.ooofacher Mittelwert der extrapolierten Reaktionskonstante für Erwachsenenkatalase unter der Annahme einer monomolekularen Reaktion ergibt. Daraus aber läßt sich definieren:

1 KAE = $\frac{1}{525}$ der 1o.ooofachen, extrapolierten Normreaktionskonstante bei 0°C, 0,6 ‰-igem Substrat und 25.ooofacher Blutverdünnung.

Ergebnisse und Diagramme der Untersuchungen

Die im Erwachsenenbezugswert zusammengefaßten Resultate der Aktivitätsbestimmungen an je 20 jungen, gesunden Frauen und Männern sind in Tabelle I getrennt wiedergegeben.

Die Zahlen zeigen, daß ein wesentlicher Unterschied bei dieser Versuchsanordnung nicht zu erkennen ist. Der Frauenwert mit 537 KAE übertrifft den Männerwert mit 514 KAE nur um 4,3%. Liegen diese Katalaseaktsgrößen auch nahe beieinander, so ist dieser kleine Unterschied oder zumindest doch die Ebenbürtigkeit der Katalasewirksam-

keit der Frau dem Mann gegenüber sehr bemerkenswert.

Tab.I Katalaseaktivitätswerte von Männern und Frauen, Normwert.

Geschl.	Zahl	Hb	Reaktionskonstanten 2′	1o′	2o′	3o′	KAE	Bezug%	Unterschi%	Diff.
männl.	2o	1o2	0,o569	0,o421	0,o363	0,o359	514	97,9	-2,1	4,3%
weibl.	2o	72	0,o586	0,o434	0,o372	0,o345	537	102,2	+2,2	
Mittel	4o	87	0,o577	0,o427	0,o367	0,o352	525	1oo,o	±0,o	

Die polarographisch bestimmten Werte des H_2O_2-Abbaues, aus denen die Reaktionskonstanten errechnet werden, seien als Beispiel für 10 Männer in Tabelle II veranschaulicht.

Tab.II H_2O_2-Konzentrationen zu bestimmten Reaktionszeitpunkten.

Geschl.	Zahl	Hb	Ausgw.‰	2′	1o′	2o′	3o′ ‰
männl.	1	87	0,6o	0,47	0,23	0,1o	0,o5
"	2	93	"	0,45	0,21	0,o9	0,o4
"	3	91	"	0,46	0,22	0,o8	0,o2
"	4	1o5	"	0,44	0,23	0,17	0,o7
"	5	9o	"	0,4o	0,17	0,o9	0,o4
"	6	94	"	0,49	0,21	0,12	0,o5
"	7	95	"	0,48	0,24	0,13	0,o6
"	8	1o5	"	0,49	0,27	0,14	0,o5
"	9	1o1	"	0,5o	0,29	0,17	0,o9
"	1o	11o	"	0,48	0,24	0,12	0,o6
Mittelwert		97,6		0,466	0,231	0,116	0,o49
Standardabweichung				±0,o141	±0,oo65	±0,oo81	±0,oo42
Standardabweichung in %				±3,o	±2,8	±7,o	±8,6

Bei der Bestimmung der kindlichen Blutkatalase wurden je 10 Werte, die dem Material gleicher Altersklassen in Wochen entstammten, zu einem Durchschnittswert zusammengefaßt. Innerhalb dieser Gruppen war ein zahlenmäßig gleicher Anteil männlicher und weiblicher Säuglinge vertreten. Zur Bestimmung der Aktivität der Blutkatalase des Neugeborenen wurde Nabelvenenblut verwendet.

Unser kindliches Untersuchungsgut setzt sich demnach wie folgt zusammen:

1. 10 Nabelschnurproben von Neugeborenen, die 28 Tage ante - 16 Tage post term. geboren wurden.
2. 10 Säuglinge 4. - 7. Woche
3. 10 Säuglinge 9. - 11. Woche

   1. - 3. zusammengefaßt = Wert des I. Trimenons (30 Best.)

4. 10 Säuglinge 12. - 14. Woche
5. 10 Säuglinge 15. - 18. Woche

   4. u. 5. zusammengefaßt = Wert des II. Trimenons (20 Best.)

6. 10 Säuglinge 19. - 27. Woche
7. 10 Säuglinge 28. - 40. Woche
8. 10 Säuglinge 41. - 68. Woche

   6. - 8. zusammengefaßt = Wert des ca 2. Halbjahres (30 B.)

Die nachfolgende Tafel(Tab.III) stellt die Werte aller Untersuchungen an Kindern zusammen, die hier nach den Zeitabschnitten des I., II. und III. + IV Trimenons im Mittel errechnet sind. Sie veranschaulicht daneben den Gang der Auswertung von der gefundenen H_2O_2-Konzentration bis zur Wirkungsgröße der Katalase. Ein eindrucksvolles Bild von den Aktivitätsverhältnissen in diesen Zeitbereichen gewinnt man auch an Hand der oben wiedergegebenen graphischen Darstellung der Ergebnisse im Reaktionskonstanten/Zeit-Diagramm (Fig. 6).

Die Zahlengrößen und das Schaubild zeigen, daß zum Teil ein deutlich verschiedener Aktivitätsgrad der Säuglingskatalase im Vergleich mit dem Erwachsenen besteht. Im I. Trimenon tritt eine Verminderung um 32,8%, im II. um 22,1% gegenüber dem Normwert klar zutage. Im 2. Halbjahr ist der Unterschied in dieser Gruppierung bis auf 5,o% gesunken. Die Resultate sind das Ergebnis von je 3o bzw. 2o Einzelbestimmungen, welche untereinander in den betreffenden Altersklassen nicht mehr als um etwa ± 5 - ± 8% differieren. Bei den Blutentnahmen wurde - soweit als möglich - Freiheit von Infekten und schweren Erkrankungen beachtet.

Einen tieferen Einblick in die im Laufe des 1. Lebensjahres zunehmende Fähigkeit des kindlichen Blutes Wasserstoffperoxyd zu spalten, gewährt eine Gegenüberstellung, welche die Aktivitätsgrößen in den einzelnen Wochengruppen charakterisiert, wenn auch die physiologi-

schen Wertschwankungen bei je 10 Bestimmungen etwas mehr hervortreten. Die Tabelle IV gibt den sukzessiven Anstieg der Katalasewirksamkeit des jungen und älteren Säuglings wieder.

Tab.III Kindliche Kataleseaktivitäten im I.u.II.Trim.u.2.Halbjhr.

Trim.	t	Ct‰	$\frac{Co}{Ct}$	log $\frac{Co}{Ct}$	$\frac{\log \frac{Co}{Ct}}{t}$	Diagw.	KAE	Bezug%	Unterschi%
I.	0	0,600				369			
	2′	0,509	1,178	0,0719	0,0359	366			
	10′	0,285	2,103	0,3222	0,0322	364			
	20′	0,162	3,703	0,5682	0,0284	355	353	67,2	-32,8
	30′	0,096	6,230	0,7945	0,0264	345			
						322			
II.	0	0,600				425			
	2′	0,492	1,219	0,0828	0,0414	421			
	10′	0,257	2,334	0,3674	0,0367	419			
	20′	0,132	4,545	0,6571	0,0328	404	409	77,9	-22,1
	30′	0,077	7,792	0,8915	0,0297	399			
						388			
III.	0	0,600				536			
+	2′	0,471	1,273	0,1038	0,0519	530			
IV.	10′	0,218	2,752	0,4393	0,0439	525			
	20′	0,090	6,593	0,8189	0,0409	469	499	95,0	-5,0
	30′	0,045	13,333	1,1239	0,0374	469			
						469			

Die in den Tafeln III und IV angeführten Zahlenwerte stellen die interessierenden Kataleseaktivitätsverhältnisse dar. Sie zeigen, daß mit Beginn des extrauterinen Lebens die Katalasewirkung von einem niederen Wert, der nach unseren Maßeinheiten mit 325 KAE identisch ist, in den ersten Wochen bereits deutlich ansteigt. Beträgt die Aktivitätsverminderung im I. Trimenon noch rund ein Drittel, so ist sie schon im II. auf weniger als ein Viertel der Gesamtaktivität zurückgegangen. Mit dem 5. und 6. Lebensmonat werden Erwachsenenwerte und mit dem 7. und 8. offenbar für kurze Zeit sogar übernormale Aktivitäten erreicht. Die Größen für die einzelnen Wochenabschnitte sind aus der Tabelle IV leicht zu erkennen.

Tab.IV Kindliche Katalaseaktivität in den einzelnen Wochengruppen.

Alter i. Wochen	Zahl	Hb	Reaktionskonstanten 2´	1o´	2o´	3o´	KAE	Bezug%	Unterschi%
28 Tage ante - 16 post term.	1o	93,5	0,o341	0,o29o	0,o249	0,o241	325	61,9	-38,1
4 - 7	1o	81,5	0,o377	0,o361	0,o310	0,o279	387	73,7	-26,3
9 - 11	1o	64,8	0,o359	0,o316	0,o298	0,o276	349	66,4	-33,6
12 - 14	1o	66,9	0,o414	0,o361	0,o323	0,o293	4o8	77,7	-22,3
15 - 18	1o	72,8	0,o432	0,o374	0,o333	0,o301	423	80,5	-19,5
19 - 27	1o	73,4	0,o502	0,o418	0,o382	0,o345	484	92,1	- 7,9
28 - 40	1o	7o,9	0,o569	0,o472	0,o46o	0,o438	538	102,4	+ 2,4
41 - 68	1o	69,8	0,o5o2	0,o428	0,o395	0,o356	489	93,1	- 6,9

Um Scheinergebnisse zu vermeiden war es unumgänglich, andere in der Literatur beschriebene Abhängigkeiten der Katalaseaktivität, so weit sie eine Rolle spielen könnten, zu untersuchen und größenmäßig zu erfassen:

Unter anderem ist eine Beeinflussung der Katalaseleistung durch Infekte zu erwägen. Es wurde daher eine Gegenüberstellung der 1o im Untersuchungsgut enthaltenen, infektbehafteten Säuglinge des Alters bis zu einem Jahr mit ebensolchen infektfreien vorgenommen. Dabei erweist sich die Fermentwirkung bei der Gruppe ohne Infekt mit 432 KAE nur unwesentlich höher als bei der Gruppe mit Infekten, welche 420 KAE besitzt. Das würde einen 2,3%igen Unterschied bedeuten (Tab. V).

Tab. V Kindliche Katalaseaktivität mit und ohne Infekt.

	Zahl	Hb	Reaktionskonstanten 2´	1o´	2o´	3o´	KAE	Bezug%	Diff.%
Infekt	1o	69,5	0,o414	0,o392	0,o374	0,o337	42o	8o,o	2,3
frei	1o	76,4	0,o432	0,o394	0,o364	0,o328	432	82,3	

Die nächste Wertetafel (Tab. VI) veranschaulicht die Aktivitätsverhältnisse in Abhängigkeit vom Geschlecht. Je 25 männliche und weibliche infektfreie Säuglinge entsprechender Altersklassen von 4 Wochen bis zu 1½ Jahren werden zu einem Vergleich herangezogen.

Tab. VI Katalaseaktivität männlicher und weiblicher Säuglinge.

Geschl.	Zahl	Hb	Reaktionskonstanten 2′	1o′	2o′	3o′	KAE	Bezug%	Diff.%
männl.	25	7o,7	0,o432	0,o424	0,o344	0,o304	454	86,4	3,8
weibl.	25	69,3	0,o484	0,o424	0,o386	0,o351	474	9o,2	

Wenn auch der Geschlechtsunterschied nicht besonders stark ausgeprägt ist, so bleibt doch eine Differenz von 3,8% erkennbar. Es scheint daher hier wie bei den Erwachsenen - wo wir diesen Wert mit 4,3% fanden - eine etwas höhere Leistungsfähigkeit weiblicher Katalase vorzuliegen. Eine Berücksichtigung dieser Tatsache muß bei allen Aktivitätsvergleichen zur Vermeidung ungenauer Resultate sicherlich erfolgen.

VI. Diskussion der Ergebnisse

Ergebnisvergleich mit früheren Angaben

Über das Verhalten der Katalase bei Testung mit Wasserstoffsuperoxyd in verschiedensten Abhängigkeiten sind zahlreiche Untersuchungen angestellt worden. In dem umfangreichen Schrifttum wurde im Laufe der Zeit - je nach dem Stande der medizinischen Forschung - zur Frage der Ursache einer veränderten enzymatischen Leistung ein unterschiedlicher Standpunkt eingenommen. So sollten Schwangerschaft, Geschlecht, Infekte, Röntgenstrahlen, Höhensonne, Rasse, Höhenkrankheit, maligne Tumoren, Diabetes, Viruserkrankungen usw. (8, 47, 52, 57, 58, 7O, 71) auf die Aktivität der Katalase Einfluß haben. Wie schon erwähnt fanden diese Versuche unter den verschiedensten Bedingungen statt, woraus man folgern kann, daß jede der vorgeschlagenen Methoden nicht allen Anforderungen gerecht wird. Aus diesem Umstand ergibt sich aber auch, daß ein Vergleich der Ergebnisse, die aus solch unterschiedlichen Untersuchungsverfahren hervorgingen,

nicht ohne weiteres möglich ist. Bei der Ermittlung des Resultats spielen ja neben der eigentlichen Auswertungsform, welche relativ leicht zu berücksichtigen wäre, noch die angeführten Faktoren wie Blutmenge, Peroxydkonzentration, Temperatur, Pufferung, Wasserstoffionenkonzentration, Versuchsdauer, Entnahmestelle u.a. eine entscheidende Rolle.

Die im deutschen Schrifttum öfter erwähnten Versuchsanordnungen sind folgende: Die Methode nach A. BACH - ZUBKOWA (3) (Bed.: Blutverdünnung 1 : 1.000; 1%iges H_2O_2; 2-Stunden Versuchsdauer; 17°C; 0,1 n $KMnO_4$), die Modifikation derselben nach MASCH (47) (Bed.: 1,5% H_2O_2; 20°C) und eine andere Modifikation derselben nach A. BACH (71) (Bed.: n/100 H_2O_2; Phosphatpuffer; 18°C; n/100 $KMnO_4$) und schließlich die oben schon besprochene Methode nach E. BACH (4) (siehe S.19). Für klinische Zwecke hatte JOLLES (27) eine Maßzahl für die Blutkatalase als Auswertungsgrundlage eingeführt, die sog. "Katalasezahl". Er verstand darunter diejenige H_2O_2-Menge in Gramm, die durch 1 ccm Blut in 2 Stunden zerlegt wird. THIENEN (65) hielt später den Bezug der Werte auf die Erythrocytenzahlen für unerläßlich und räumte damit der Bedeutung der Konzentration bei einem Aktivitätsvergleich den gebührenden Platz ein. Der von ihm aufgestellte "Kataseindex" bildete den Quotienten aus Katalasezahl und Zahl der Erythrocyten in Millionen pro cmm Blut. Die Untersuchungen selbst aber liefen dabei stets bei gleichbleibenden Bedingungen ab. Eine evtl. vorhandene höhere oder niedere Katalasekonzentration traf immer auf konstante Wasserstoffsuperoxyd-Mengen, die Berücksichtigung der Unterschiede erfolgte erst nach dem Experiment. In den neueren Arbeiten erfährt diese Ansicht im wesentlichen nur insofern eine Abänderung, als JONES und McCANCE (28) die Aktivität der in den Erytrocyten vorhandenen Fermente, so auch die der Katalase, auf mg Bluteisen beziehen. Damit ist für die Auswertung ein neuer Blickpunkt gewonnen.

Katalasebestimmung ohne Konzentrationsausgleich

Im Rahmen dieser Arbeit wurde nun versucht die Bedingungen älterer Auswertungs- und Untersuchungsformen - soweit sie einen Vergleich zu ließen - zu reproduzieren. Veranlassung dazu gab einerseits die Überprüfung der eigenen Methode, andererseits die Erklärung der Unter-

schiede zwischen eigenen Ergebnissen und den schon früher gefundenen. Welch abweichende Resultate entstehen, wenn nicht die Konzentration des Ferments in Betracht gezogen wird, sondern unter stets gleichbleibenden Bedingungen wie bisher Männer-, Frauen- und Kinderwerte bestimmt werden, zeigen nachstehende Tabellen (Tab. VII a u. b).

Tab. VIIa Aktivitätsvergleich ohne Hb-Bezug Männer, Frauen, Kinder.

	Zahl	(Hb)	"KAE"	Bezug%	Unterschi%	Diff.		KAE	Bezug%	Unterschi%	Diff.	
Männ.	6	1oo,o	6oo	114,2	+14,2	27,8		514	97,9	-2,1	4,3	
Frau.	6	76,2	454	86,4	-13,6	41,7		537	1o2,2	+2,2	22,2	
Kind.	6	67,o	235	44,7	-55,3			42o	8o,o	-2o,o		

Diese Zusammenstellung führt die Verhältnisse einfach in den Maßzahlen vor, die in vorliegender Arbeit allgemein Anwendung finden. Beachtenswert ist, daß plötzlich die Kataleleistung der Männer mit 6oo "KAE" die der Frauen mit 454 "KAE" weit übertrifft. Auch der Abstand von Kinder- und Frauenwerten mit 41,7% oder gar der von Kinder- zu Männerwerten mit 69,5% scheint beträchtlich vergrößert.

Bezieht man die Dimensionen unserer Versuchsbedingungen auf diejenigen, welche JOLLES zur Ermittlung seiner Katalasezahl festgelegt hat, so kommen wir zu Vergleichsresultaten anhand folgender Überlegungen: 1 ccm unserer Blutverdünnung enthält 0,3921 cmm Blut. Eine dem Vergleich gerecht werdende Menge ist also 255o mal größer. Andererseits enthalten 1o ccm unseres 0,6‰igen Substrats rund 6 mg H_2O_2. Für die obigen Frauenwerte ergibt sich somit Ct, die Konzentration nach 2 Stunden, graphisch oder durch Errechnung aus Formel (III) mit rund 0,oo316 ‰. Diese Größe entspricht einer abgebauten Wasserstoffperoxydmenge von 0,oo59684 . 255o = 15,21 g. Für die Kinder ist Ct = 0,oo955 ‰ und das zerlegte H_2O_2-Quantum = 0,oo59o45 . 255o = 15,05 g. Die Katalasezahlen für die in Tab. VIIa angeführten Frauen und Kinder betragen also 15,2 bzw. 15,o.

Bei den Männern, deren Testsubstrat in diesen Konzentrationen den Nullwert schon nach 80 Minuten erreicht, ergibt sich die Katalase-

zahl aus der Beziehung ihrer KAE zur durchschnittlichen KAE und mittleren Katalasezahl der Frauen und Kinder mit 26,1. (Siehe auch Tab. VIIb).

Das aber sind die Größen, die auch von JOLLES (27), MASCH (47), A. BACH - ZUBKOWA (3), BISCHOFF (8) u.a. angegeben werden. So bestimmen z.B. A. BACH und ZUBKOWA die Katalasezahl für den Menschen mit 14 - 18 im Durchschnitt 16, MASCH die des Mannes mit 18 - 3o und als Mittelwert 24,9, die der Frau zwischen 15 - 29 und als Durchschnitt 21,5. Nach BISCHOFF beträgt die mittlere Katalasezahl beim Erwachsenen 16,1, bei Kinder 16,8 und bei Säuglingen 14,1.

Werden nun, in der Weise wie es THIENEN (65) angegeben hat, diese Befunde mit der Zahl der Erythrocyten in Beziehung gesetzt, so erhält man die Kataloseindex-Größen für Männer, Frauen und Kinder unserer Vergleichsuntersuchungen. Diese Werte sind mit den entsprechenden Katalasezahlen in Tafel VIIb zusammengestellt.

Tab.VIIb (Forts.v.VIIa) Vergleichs-Katalasezahl u. Kataloseindex.

	Kat. Zahl	zu eig.Ø Bezug%	2o,6 Untsch%	Ery. Mill.		Kat. Index	zu eig.Ø Bezug%	4,61 Untsch%
Männ.	26,1	126,6	+26,6	5,o	$\frac{26,1}{5,o}$ =	5,22	113,4	+13,4
Frau.	15,2	73,7	-26,3	3,8	$\frac{15,2}{3,8}$ =	4,oo	86,7	-13,3
Kind.	15,o	72,8	-27,2	3,3	$\frac{15,o}{3,3}$ =	4,56	98,9	- 1,1

Die Indizes, welche BISCHOFF (8) nennt, sind für männliche, ältere Kinder und männliche Säuglinge 3,8, für weibliche, ältere Kinder und weibliche Säuglinge 4,o. A. BACH und ZUBKOWA fanden den Kataloseindex des Menschen mit 3,2, wenn sie der Auswertung 5 Mill. rote Blutkörperchen zugrunde legten. W. MASCH sah unter Berücksichtigung individueller Erythrocytenzahlen Indizes von 3,16 - 5,55 bei Männern und Frauen (71).

Aus diesen Gegenüberstellungen scheint der Beweis erbracht, daß die Angaben vorliegender Arbeit früheren Untersuchungen an Zuverlässigkeit und Genauigkeit nicht nachstehen. Es ergeben sich Werte, die

mit denen früherer Arbeiten nahezu identisch sind und für diese als Bestätigung dienen können. Wie weit aber eine Berechtigung oder sogar Notwendigkeit vorliegt, sich auf andere Grundlagen als die der Erythrocytenzahl zur Normierung der Versuchsbedingungen zu beziehen, erhellen einfache Überlegungen.

Katalasebestimmung unter Konzentrationsberücksichtigung

Als ein Grundsatz für die Erforschung enzymatischer Leistung muß angesehen werden, daß die Aktivität von Fermenten nur bestimmt werden kann, wenn ihre eigene Konzentration Berücksichtigung findet. Selbstverständlich werden z.B. höhere Enzymkonzentrationen auch höhere Substratumsätze und schnellere Reaktionsabläufe zur Folge haben. Für gewichtsmäßig zu erfassende Mengen, bei Untersuchungen der Katalase in Substanz, hat das Von EULER (12) schon lange im Begriffe der "Katalasefähigkeit" (Kat.f.) festgelegt. Die Bedeutung des Konzentrationsfaktors auch für klinische Zwecke geht klar aus obigen Vergleichsuntersuchungen hervor. Man könnte einwenden, daß die H_2O_2-Abbaugrößen - wie besprochen - ja an und für sich schon ein Maß für die Enzymkonzentration darstellen. Dem ist aber entgegen zu halten, daß die Gesamtmenge zerstörten Wasserstoffperoxyds nur dann proportional der Enzymkonzentration wäre, wenn eine Konstanz der Zerstörungsgeschwindigkeit des Fermentes und eine stets gleichgroße initiale Enzymwirksamkeit bestünde. Über Aktivitätsdifferenzen bei gleichen Konzentrationen wäre dabei aber keine Aussage möglich.

Um die unterschiedlichen Katalasemengen in den Erythrocyten verschiedener Untersuchungsproben für die wahre Aktivitätsbestimmung auszuschalten, muß nach einem sinnvollen Bezugswert eine jeweils andere Verdünnung vorgenommen werden. JONES und McCANCE (28) haben ihre Katalasewerte pro mg Bluteisen ausgedrückt und die Korrelation beider Faktoren angedeutet. Da anzunehmen ist, daß die Anteile des Eisens im kindlichen und Erwachsenenblut dieselben sind, weil prozentual das Fe in den Hämoglobinen verschiedener Personen als gleich hoch gilt (2o, 21), bringt ein Bezug auf Hb keine Änderung dieser Proportion. Die Aktivität des Fermentes kann dadurch, unter Berücksichtigung der Hb-Prozente, gekennzeichnet werden. Auch liegt eine Analogie zwischen Hämoglobin und Katalase insofern nahe, als es sich bei beiden um artverwandte, eisenhaltige Moleküle ähnlicher Konsti-

tution und - evtl. - Entstehung handelt. Wird hingegen die Katalaseaktivität pro Erythrocytenvolumseinheit ausgedrückt, wie es durch den Index geschieht, so sind die Unterschiede der Bezugsgröße erheblich, denn die Beladung der roten Blutzelle ist ja eine wechselnde. Abgesehen von schweren Erkrankungen des Blutes ist gerade die Hypochromie bei Kindern und Frauen häufig; auch zeigt der junge Säugling, besonders aber das Neugeborene, eine erhöhte Hb-Beladung der Erythrocyten um durchschnittlich 2o% (19).

Alle die Untersuchungen, welche diesen Verhältnissen nicht die gebührende Bedeutung zukommen lassen, müssen notwendigerweise eine Beeinträchtigung ihrer Ergebnisse erfahren. Es ist nur allein so zu erklären, daß gelegentlich beim voll ausgetragenen Neugeborenen eine größere Katalaseaktivität als bei der Mutter gefunden werden konnte (1). Auch zwingen Ergebnisse zur Skepsis, die eine gesteigerte Katalaseaktivität auf hohen Bergen, im Embryonalblut und als signum mali ominis bei der Perniciosa kennzeichnen wollen (50, 57, 58).

Durch Berücksichtigung der Hämoglobinwerte bei der Verdünnung werden demgegenüber für die Katalasekonzentration immer analoge Verhältnisse geschaffen. Alle Spaltansätze enthalten das gleiche Hämoglobin- und auch das ihm proportionale Fermentquantum. Daraus läßt sich ableiten, daß allein aus diesem Grunde der absolute Aktivitätsunterschied der Katalase verschiedenen Ursprungs faßbar wird, wenn noch dazu durch Wahl einer geeigneten Bestimmungsmethode für die exakte Messung hoher Verdünnungen gesorgt wird. Darüberhinaus muß besonders bei vorliegenden Versuchen interessieren, in welchem Verhältnis die Konzentration der Katalase gegenüber der des Hämoglobins steht, da nach obigen Überlegungen die zu klärende Wirkung des Enzyms gerade an Hb ansetzen soll. Eine Nivellierung der Konzentrationen des Blutfarbstoffes in allen Proben muß zwangsläufig so die Größe der Katalasewirksamkeit auf das Hb zum Ergebnis haben. Hierbei besteht natürlich prinzipiell die Möglichkeit, daß dieser Fermentleistung eine veränderte Konzentration oder differierende Aktivität im eigentlichen Sinne des Wortes zugrunde liegt. Auch an eine Artverschiedenheit besonders der fetalen Katalase in Analogie zum fetalen Hämoglobin muß man denken. LEMBERG (45) und SUMNER (61) vermuten, daß allgemein verschiedene Katalasen existieren, da unter Einwirkung von Aceton und HCl unterschiedliche Farbreaktionen und Abbauprodukte auftreten. Für den Stoffwechselmechanismus des Blutes

in unserem Falle dürfte das wohl nicht mehr ausschlaggebend sein.

Kinderkurven und Altersabhängigkeit

Die ermittelten Kinderwerte zeigen deutlich, daß im Blute des Neugeborenen und jungen Säuglings eine Verminderung der Katalaseaktivität um ca 1/3 zu finden ist. Genauer gesagt, liegen die Werte für das I.Trimenon um 32,8% und für das Nabelschnurblut sogar um 38,1% unter dem Erwachsenenniveau. Diese Verminderung entspricht den Erwartungen und läuft den Werten verblüffend parallel, die andere Autoren für sonstige Fermentsysteme des Blutes während der postnatalen Phase angegeben haben. So fand STEVENSON (59) den Carboanhydrasewert bei Kindern ungefähr um 1/3 kleiner. An Erythrocytenenzymen des Nabelvenenblutes konnten JONES und McCANCE (28) die Werte für Cholinesterase um 39,2%, Glyoxalase um 49,4%, Carboanhydrase um 75,2% und Katalase um 3o,6% gegenüber den Erwachsenen vermindert sehen. KÜNZER und SCHNEIDER (39) konnten nachweisen, daß die Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten des Nabelschnurblutes und des Blutes junger Säuglinge bis zu 5o,9% bzw. 17,3% gegenüber den Normwerten der Erwachsenen als Ausdruck geringerer Wirksamkeit der glykolytischen Fermentsysteme differiert.

Auffällig ist nun, daß von der niederen Aktivität der Katalase im Nabelvenenblut ein ziemlich rascher Anstieg einsetzt, der die Erwachsenenwerte im 5. - 6. Lebensmonat schon erreicht. Der Zeitraum reduzierter Fermentleistung fällt demnach in das I. und II. Trimenon, gerade jenen Lebensabschnitt, in welchem der junge Säugling seine Umstellungen und Anpassungen an die neue Umwelt vollzieht. Dazu zeigte KÜNZER (38), daß die Mauserung der Erythrocyten in den ersten Lebenswochen gegenüber allen Lebensperioden deutlich erhöht ist, was zu Reduktion des hohen Hb-Geburtsbestandes und des fetalen Hämoglobins führt. Exakte Messungen des Hämiglobins während dieser Zeit erbrachten sichtlich erhöhte Werte bis zu 5,7% (40) und erwiesen das herabgesetzte Reduktionsvermögen desselben (41). Schließlich war auch die Innenkörperbildung in den roten Blutzellen gerade in diesem Lebensabschnitt am häufigsten zu finden (17, 29, 67) und am leichtesten zu erzeugen (22, 44).

Durch diese Tatsachen liegt der Schluß nicht fern, daß die Katalase neben den anderen Fermentsystemen sehr wesentlich in die Vorgänge

der frühkindlichen Blutmauserung und später in die Restitution des Hämoglobins und der Erythrocyten eingreifen könnte. Ihre Rolle als "Blutschutz" (6, 7) wäre hierbei auffallend verständlich. Der vermehrte Abbau des fetalen, besser O_2-bindenden Hämoglobins erscheint gewollt und hat eine Überlastung der entsprechenden Regulationseinrichtungen zufolge (38). Daher wäre der Organismus des Neugeborenen und Trimenonkindes gar nicht an der Erhaltung des fetalen Hämoglobins interessiert und ein Schutz desselben nur hinderlich und daher unerwünscht: Die Katalasewerte sind niedrig.

Dazu würde auch passen, daß mit einer außergewöhnlichen Beanspruchung des Oxydationsschutzes (6, 7) und der reduzierenden Fermentsysteme des Blutfarbstoffes (32, 33, 35, 39) in diesem Alter Hämiglobinämien (43) und Innenkörperbildungen (17, 29, 44, 67) unter Umständen krankhafter Art auftreten, da diese Fermente zugunsten des Abbaus offensichtlich geschwächt, bei einer zusätzlichen Belastung versagen müssen.

Da im I. Trimenon das fetale Hämoglobin bevorzugt abgebaut wird (39), scheint dieser Vorgang noch durch niedere Katalaseaktivität und verminderte Leistung anderer Fermente eine Unterstützung zu erfahren. Die "physiologische Anämie", die nun mehr und mehr einsetzt und deren Ursache auch die noch daniederliegende Produktion widerstandsfähiger Erythrocyten ist, dürfte langsam einen zunehmenden Schutzmechanismus für die noch verbliebene Hämoglobinmenge und -träger nötig machen: Die Katalasewerte steigen an.

Gegen Ende des 2. Lebensmonats werden für ausgetragene Säuglinge 8o - 6o% Hb für Frühgeburten 5o und weniger gemessen (38). Der Tiefstand der Hb-Konzentration, der Höhepunkt der Mauserung ist erreicht. Nur langsam kommt die Hämoglobinbildung den Anforderungen nach. Erklärlich wäre jetzt, daß der kindliche Organismus bei so niederen Hb-Werten bemüht sein müßte, das noch vorhandene Hämoglobin möglichst vollständig am O_2-Transport zu beteiligen. Er kann es sich nicht mehr leisten weiteren Blutfarbstoff dem Abbaumechanismus preiszugeben oder wenigstens vorübergehend einzubüßen. Das verbliebene Hb könnte aber offenbar nur durch weitere Aktivitätssteigerung der Blut schützenden Fermente, besonders auch der Katalase vor noch größeren Verlusten bewahrt werden. So wäre Hb-Abbau und Hb-Bedarf im Gleichgewicht gehalten: Die Katalasewerte steigen weiter an, Ende des 2. - 3. Monats

tritt eine Stabilisierung der Hämoglobin- und Erythrocytenzahlen ein (18).

Der mit weiterer Alterszunahme des Säuglings einsetzenden Regeneration des Erythrocythen- und Hb-Bestandes würden die im 5. und 6. Monat auf das Erwachsenenniveau angestiegenen Enzymwerte entsprechen. Darüber hinaus ist am Ende des II. Trimenons die Minderung der Katalasewirkung nicht nur ausgeglichen, sondern scheint in überschießender Gegenregulation in den folgenden Wochen sogar die Erwachsenen-Bezugswerte um ca 2,4% vorübergehend zu übertreffen. Das durch die Blutmauserung stark verminderte Hb-Quantum ist offenbar auf Grund überschießender Katalaseaktivität vor weiteren Verlusten besonders bewahrt. Mögen niedere Katalasewerte den Abbau des fetalen Hämoglobins und der Erythrocyten gefördert haben, so schützen und unterstützen die hohen des III. Trimenons die nun in Gang gekommene Erythropoese. Die kräftige Fermentwirkung wäre also mit der gesteigerten Knochenmarktätigkeit, dem Ende der Säuglingsanämie und der stärkeren Wachstumsperiode gut zu erklären. Das Säuglingshämoglobin ist im 8. Lebensmonat vom Erwachsenenhämoglobin vollständig ersetzt.

Die späteren Aktivitätsgrößen des Katalaseenzyms lassen eine ständige Angleichung an die Erwachsenenwerte erkennen.

Infekt und Katalaseaktivität

Zur Frage der Infektabhängigkeit der Katalasewerte ist nach vorliegenden Versuchen nur im beschränkten Maße eine Aussage möglich. Die im Untersuchungsgut enthaltenen zehn Infektfälle zeigen zwar gegenüber infektfreien Altersgenossen eine ungefähr gleiche, d.h. nur um ca 2% erniedrigte Fermentleistung, doch dürfte die Zahl der Bestimmungen für ein gerundetes Bild individueller und anderer Schwankungen wegen (8) etwas zu tief liegen. Sollte dennoch damit ausgedrückt sein, daß keine wesentlichen Differenzen zwischen den Katalasewerten "infektbehaftet" und "infektfrei" bestehen, so käme das der in der Literatur (8, 50) oft vertretenen Ansicht gleich.

Deutliche Unterschiede demgegenüber im Sinne eines Aktivitätsrückganges beschreiben einige Autoren bei den verschiedensten Infektionskrankheiten (57, 58, 70) und bei Karzinom, Diabetes, Epilepsie u.a. (52,57). Die Ursache dieser widersprechenden Meinungen ließe sich

vielleicht dadurch klären, daß gerade bei chronischen Infekten und zehrenden Affektionen eine beträchtliche Reduktion des Hämoglobin- und Erythrocytenquantums einzutreten vermag, die dann eine verminderte Katalaseaktivität vortäuscht.

Katalasewerte in Abhängigkeit vom Geschlecht

Ein Vergleich der Katalasewerte männlicher und weiblicher Säuglinge erschien wichtig, um zu erkennen, in wie weit das Geschlecht die Wirkungsgrößen beeinflußt und die Genauigkeit beeinträcht. Das lag um so näher, als in der Literatur oft zu der unterschiedlichen Leistungsfähigkeit der Blutkatalase bei männlichen und weiblichen Individuen Stellung genommen wird. Anhand unseres Vergleiches liegen die Ergebnisse 25 weiblicher und männlicher Säuglinge verschiedener, jedoch genau entsprechender Altersklassen bei ersteren um 3,8% höher. Für die Erwachsenen zeigen die Werte von je 2o jungen, gesunden Frauen und Männern eine Differenz von 4,3% zugunsten des weiblichen Geschlechts.

Wenn auch diese relativ kleinen Unterschiede vorsichtig zu bewerten sind, so läßt sich doch ein geringes Überwiegen der Wirksamkeit für "weiblich", zumindest aber eine Gleichheit der Geschlechter feststellen. Eine Aktivitätsverminderung, wie sie gelegentlich beschrieben wird (47, 50), scheint damit nicht vereinbar. Es bleibt zu überlegen, ob nicht durch Einbeziehen anämischer Zustände, besonders jedoch hypochromer Anämien in das Untersuchungsgut ein solches Frauenergebnis entstanden sein könnte. Falls außerdem noch auf die Errechnung der Katalaseindex-Größen verzichtet wurde, genügen für diesen Befund offenbar schon die normal etwas tieferliegenden Hb- und Erythrocytenzahlen der Frau. Unsere Werte stimmen mit den Angaben von BISCHOFF (8) überein, welcher für 15o männliche und weibliche Säuglinge und Kinder bei ermitteltem Katalaseindex die Aktivität der weiblichen ungefähr 5% höher angibt. SEGALL und HÄNDEL (53) fanden eine größere katalatische Wirksamkeit des Frauenblutes.

Ob das nach unseren Befunden geringe Überwiegen des Frauenwertes einen Rückschluß auf einen besseren Oxydationsschutz des Frauenblutes zuläßt, sei dahin gestellt. Erklärlich wäre, daß infolge der erhöhten physiologischen Belastung des Bluthaushaltes der weibliche Organismus bemüht sein müßte, bei seinen sowieso niedrigeren Hb-Wer-

ten das vorhandene Hämoglobin möglichst vollständig in den O_2-Transport einzuspannen und weitere Einbußen zu vermeiden. Es ließe sich demnach statt einer Aktivitätsverminderung eher eine Steigerung der Fermentleistung der Frau als sinnvoll deuten. Fraglich bleibt, ob etwa diese Sonderstellung bereits dem Kindesalter zukommt, und ob sie evtl. mit der geringeren Anfälligkeit weiblicher Säuglinge im Zusammenhang stehen könnte.

In Anbetracht dieser kleinen Geschlechtsunterschiede wurde bei vorliegenden Katalasetestungen stets auf einen zahlenmäßig gleichen männlichen und weiblichen Anteil in den untersuchten Gruppen gesehen und darüber hinaus natürlich angestrebt, allen Möglichkeiten methodischer Fehler nachzugehen.

Folgerungen für den Blutfarbstoffwechsel

Es hat sich gezeigt, daß verschiedene Fermentsysteme im Nabelschnurblut und Blut junger Säuglinge eine Wirkungsschwäche aufweisen (28, 41, 43). Dies trifft somit auch für die Katalase und die ihr funktionell nahe stehende Enzyme zu. Entsprechend der Natur dieser beiden Fermentgruppen ist daher nicht allein das Hämiglobinreduktionsvermögen in den Erythrocyten dieser Lebensperiode besonders herabgesetzt, sondern scheint auch der Oxydationsschutz des Hämoglobins bedeutend vermindert. Grundsätzlich besteht dabei die Möglichkeit, daß erstens die Konzentration der Katalase verringert, zweitens ihre enzymatische Kraft geschwächt ist, oder aber daß drittens eine andere Kataläseart vorliegt. Durch diesen Mangel gewinnen wir in jedem Falle Verständnis für die erhöhte Hämiglobin- und Innenkörperbildung, wie auch für die verkürzte Lebensdauer der roten Blutzellen: Es liegt nämlich nahe, die verminderte Wirkung der Katalase als eine der Bedingungen zu deuten, welche zur Hämiglobinämie führen. Ferner kann sie auch als Voraussetzung für die durch oxydative Kräfte am Hämoglobineiweiß erzeugten Innenkörper gelten. Für diese Vorgänge wäre offenbar aber nötig, daß über den Mechanismus reduzierter Katalaseleistung den Zellperoxyden und den mannigfaltigen anderen oxydativen Noxen bakterieller oder toxischer Art kein genügend großer Schutz entgegengestellt ist. So ließe sich anhand dieser Fermentschwäche im Säuglingsalter ein Beitrag zur Funktionsklärung der Katalase in den roten Blutzellen leisten.

Das Ergebnis dieser Arbeit kann als ein erneuter Hinweis auf die physiologischen Besonderheiten und die innere Konstitutionsschwäche der Erythrocyten des Neugeborenen und jungen Säuglings angesehen werden.

VII. Zusammenfassung

1. Der Nachweis enzymatischer Leistungsminderung, sowie begünstigter Hämiglobin- und Innenkörperbildung in den Erythrocyten des jungen Säuglings wirft auch die Frage nach dem Verhalten der Blutkatalase in diesem Lebensabschnitt auf.

2. Es wird darum die Größe der Wasserstoffsuperoxyd spaltenden Wirkung des hämolysierten Blutes von Kindern bis zu 1½ Jahren und des Nabelvenenblutes untersucht. Ergebnisse an Erwachsenen dienen als Vergleichswerte.

3. Unter Anlehnung an bestehende Methoden wird eine polarographische Untersuchungsform entwickelt, die eine ausführliche Darstellung und Besprechung erfährt.

4. Zur Normierung der Untersuchungsbedingungen zeigt sich die Berücksichtigung der Hb-Konzentration geeignet und berechtigt. Die Einheit der Katalaseaktivität wird für diese Versuche in der KAE festgelegt.

5. Eine enzymatische Unterfunktion der Erythrocyten des Neugeborenen und jungen Säuglings kann auch für die Katalase bestätigt werden. Die Aktivität des Nabelschnurblutes liegt um 38,1%, die des Trimenonkindes um 32,8% unter dem Erwachsenenniveau. Durch kontinuierliche Wirkungssteigerung erreicht sie mit Ende des 5. - 6. Lebensmonat normale und vorübergehend übernormale Werte.

6. Eine Infektabhängigkeit läßt sich nicht nachweisen.

7. Das Geschlecht scheint einen gewissen Einfluß auf die Aktivitätsgröße der Katalase zu haben, die Werte weiblicher Individuen liegen etwas höher.

8. Vergleichsuntersuchungen nach früheren Methoden können deren Ergebnisse z.T. bestätigen.

9. Die Aktivitätsverminderung der Katalase im Nabelschnur- und Säuglingsblut entspricht der Größe der Wirkungsminderung anderer Blutfermente in diesem Zeitraum.

10. Der Zeitpunkt der stärksten Hämiglobin- und Innenkörperbildung stimmt mit dem der geringsten Katalaseaktivität überein. Es scheint eine gewisse Schutzfunktion der Katalase für den Blutfarbstoff gesichert.

11. Eine Unterstützung des Abbaus fetalen Hämoglobins durch niedere Katalaseleistung läßt sich vermuten.

12. Der durch die Blutmauserung stark reduzierte Hb-Bestand wird später offenbar durch steigende Katalasewirkung wieder geschützt und vor weiteren Verlusten bewahrt.

13. Dem Hämoglobin- und Katalasetiefstand im I. und II. Trimenon folgt die Hb-Regeneration mit einer scheinbar gegenregulatorischen Katalaseaktivitäts-Vermehrung.

14. Diese kräftige Katalasewirkung zeigt neben dem älteren, aufbauenden Säugling, auch das in seinen Blutstoffwechsel physiologisch höher belastete weibliche Geschlecht.

15. Eine wesentliche Funktion der Katalase und ihrer Wirkung ähnlicher Fermente im Blutfarbstoffwechsel des Säuglings und Erwachsenen scheint durch alle diese Tatsachen begründet.

VIII. Danksagung

Herrn Prof. Dr. J. S t r ö d e r,
Direktor der Universitäts - Kinderklinik,

welcher freundlicherweise auch das Korreferat übernahm, ferner

Herrn Prof. Dr. G. F i s c h e r,
Vorstand des Chemischen Institutes und

Herrn Prof. Dr. K. B u r g e r,
Direktor der Universitäts - Frauenklinik

möchte ich für die großzügige Überlassung des bei den Untersuchungen verwendeten Materials aufrichtigst danken.

Herrn Priv. Doz. Dr. W. K ü n z e r,
Oberarzt der Universitäts - Kinderklinik

bin ich für Themastellung und wertvolle Anregungen zu Dank verpflichtet.

IX. Literaturübersicht

1. ANSELMINO, K.J. und F. HOFFMANN: Arch. Gynaek. 143, 5o5 (1931).
2. AUSSEN, B.S., T.Y. KINGMA BOLTJES en B.S.J. WÖSTMANN: Antonie van Leeuwenhoek 16, 65 (195o).
3. BACH, A. und S. ZUBKOWA: Biochem. Z. 125, 283 (1921).
4. BACH, E.: Biochem. Z. 227, 221 (193o).
5. BETKE, K.: Naturwiss. 28, 481 (1939).
6. BINGOLD, K.: Münch. med. Wschr. 699 (1941).
7. BINGOLD, K.: Ärztl. Forsch. 1, 41 (1947).
8. BISCHOFF, H.: Arch. f. Kinderk. 82, 189 (1927).
9. BRDICKA, R.: Coll. 8, 366 - 76 (1936) zit. n.v.Stackelberg sieh.56
10. BRDICKA, R., K. WIESNER und K. SCHÄFERNA: Naturwiss. 31, 39o (1943).
11. ENGEL, M.: Klin. Wschr. 46 und 1177 (194o).
12. EULER, H. von, und O. SVANBERG: Z. physiol. Chem. 1o6, 2o1 (1919).
13. EULER, H. von, und K. JOSEPHSON: Ann. 452, 158 und 455, 1 (1927). zit. nach ZEILE, K. siehe 71.
14. EULER, H. von, und A. GLASER Dtsch. med. Wschr. 631 (195o).
15. FEINSTEIN, R.: J. of Biol. Chem. 18o, 1197 (1949).
16. FOULKES, E.C. and R. LEMBERG: Proc. roy. Soc. London, Ser. B. 136, 435 (1949).
17. GASSER, C. und J. KARRER: Helv. Paed. Acta 3, 387 (1948).
18. GLANZMANN, E.: aus Rominger Lhrb. d. Kindhk. 4. - 5. Aufl. Berlin: Springer 576 (195o).
19. GOEBEL, F.: aus Rominger Lhrb. d. Kindhk. 4. - 5. Aufl. Berlin: Springer 321 (195o).
20. HAUROWITZ, F.: Hoppe Seyler Z. 186, 141 (193o).
21. HAUROWITZ, F.: Hoppe Seyler Z. 232, 125 (1935).
22. HEUBNER, W.: Klin. Wschr. 137 (1941) und 52o (1942).
23. HEYROVSKY, J.: aus Leitfähigkeit, Elektroanalyse u. Polarogr. Leipzig: Akad. Verl. Ges. 260 (1936).

24. HEYROVSKY, J.: Polarogr. Prakt. Berlin: Springer (1948).

25. HOFFMANN - OSTENDORF, O., E. BIACH und S. GIESER:
Experentia (Basel) 3, 1o8 (1947).

26. HOHN, H.: Chem. Analysen m. d. Polarographen,
Berlin: Springer (1937).

27. JOLLES, A.: Münch. med. Wschr. 51, 2o83 (1904).

28. JONES, P.E.H. and R.A. McCANCE: Biochem. J. 45, 464 (1949).

29. JÜRGENS, R. und W. SCHÜRER: Schweiz med. Wschr. 75, 1o55 (1945).

30. KEILIN, D. and E.F. HARTREE: Biochem. J. 39, 148 und 289 (1945).

31. KIESE, M. und B. WEISS: Arch. exp. Path. Pharmak. 2o2, 493 (1943).

32. KIESE, M.: Biochem. Z. 316, 264 (1944).

33. KIESE, M.: Klin. Wschr. 24, 81 (1946).

34. KIESE, M.: Klin. Wschr. 24, 83 (1946).

35. KIESE, M.: Arch. exp. Path. Pharmak. 2o4; 288, 451 (1947).

36. KOLTHOFF, I.M. and E.B. SANDELL: Textbook of Quant. Inorg. Anal.
New York: Macmillan Comp. (1936).

37. KORTÜM, H.: Lehrb. d. Elektrochem.
Wiesbaden: Dieterichsche Verl. Buchh. 367 (1948).

38. KÜNZER, W.: Bibl. Paediat. 51 (1951) Verl. Karger, Basel.

39. KÜNZER, W.: Acta haematol. 6, 237 (1951).

40. KÜNZER, W. und W. SAVELSBERG: Klin. Wschr. 29, 648 (1951).

41. KÜNZER, W. und D. SCHNEIDER: Acta haematol. (Basel) 9, 346 (1953).

42. KÜNZER, W., E. AMBS und D. SCHNEIDER:
Klin. Wschr. 31, 617 (1953).

43. KÜNZER, W., E. AMBS und D. SCHNEIDER:
Klin. Wschr. 31, 617 (1953) zit. Lit. 1 - 25.

44. KÜNZER, W. und E. AMBS: unveröffentlichte Arbeit.

45. LEMBERG, R., M. NORRIE and J. W. LEGGE:
Nature 144, 551 (1939) zit. n. Sumner and Somers s. 62.

46. LEVY, H., V. LEVISON and A. SCHADE:
Arch. of Biochem. 27, 34 (195o).

47. MASCH, W.: Z. exper. Med. 77, 274 (1931) zit. n. Zeile zieh. 71

48. MOESCHLIN, H.: Fol. haematol. 65, 345 (1941).

49. MOLLAND, J.: Act. Path. Scand.- Suppl. LXVI, (1947).

50. MOOSBRUGGER, G. A., V. SPUHLER und K. MEYER:
Schweiz. Zs. f. Allg. Path. u. Bakt. XV, 671 (1952).

51. NOSAKA, K.: J. Biochem. 8, (1928).

52. OLIVA, G. und A. MAGRINI: Boll. Soc. ital. Biol. sper.
17, 1o9 (1942).

53. SEGALL und HÄNDEL: zit. n. Bischoff sieh. 8.

54. SEIDE, G.: Biochem. Z. 3o8, 175 (1941).

55. SENTER, G.: Zs. f. Physik. Chemie 44, 257 (19o3).

56. STACKELBERG, M. von: Polarographische Arbeitsmethoden.
Berlin: De Gruyter (195o).

57. STAFFE, A.: Ann. paediatr. 175, 77 (195o).

58. STAFFE, A. und V. DARGUZAS: Acta haematol. 5, 36 (1951).

59. STEVENSON, S.S.: J. clin. Invest. 22405 (1943).

60. SUMNER, J. B. and N. GRALEN: J. Biol. Chem. 125, 33 (1938).

61. SUMNER, J.B., A.L. DOUNCE and V.L. FRAMPTON:
J. Biol. Chem. 136, 343 (1941).

62. SUMNER, J.B. and G.F. SOMERS: Chemistry and Methods of Enzymes.
2nd ed. New. York: Acad. Press 2o7 (1947).

63. TAUBER, H.: The Chemistry and Technology of Enzymes
New York: Willy, VIII, 55o (1949).

64. THEORELL, H.: Experentia 4, 1oo (1948).

65. THIENEN van, G.J.: Diss. Groningen (1917) und
Zbl.Biochem. u. Biophysik 2o, 159 (1919).

66. WESLEY, D.:Arch. internat. Physiol. 6o, 1-7 (1952).

67. WILLI, H. und F. HARTMAYER: Schweiz. med. Wschr. 8o, 1o91 (195o).

68. WILLIAMSON, J. and E.A. RUDGE: Biochem. J. 43, 15 - 16 (1948).

69. WLADIMIROV, G.E. a A.J. KOLOTILOVA: Biochemia 12, 321 (1947).

70. YAMAFUJI, K.: Enzymologia Haag 13, 233 (1949).

71. ZEILE, K.: Katalase, aus Bamann - Myrbäck; Die Methoden der
Fermentforschung III, 2615 (1941).

Lebenslauf

Am 20. Januar 1923 wurde ich als Sohn des prakt. Arztes Dr. med. Anton Schütz und seiner Ehefrau Adele, geb. Falb, in Aussig-Türmitz geboren. Nach der Volksschule besuchte ich in den Jahren 1934 - 1942 das deutsche Staatsrealgymnasium, später Gymnasium in Aussig und erwarb hier am 17. März 1942 das Zeugnis der Reife. Anschließend wurde ich zum Wehrdienst einberufen und war von Mai 1943 bis Juni 1946 Kriegsgefangener in den Vereinigten Staaten. Im Wintersemester 1946/47 begann ich an der Universität Würzburg das Studium der Medizin, legte hier im Sommer 1947 das Vorphysikum und im Frühjahr 1949 das Physikum ab. Nach vorübergehender Unterbrechung meiner klinischen Studien bestand ich am 7. Mai 1953 das medizinische Staatsexamen.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angeführten Literatur angefertigt habe. Bisher habe ich von keiner anderen Seite ein Thema zur endgültigen Bearbeitung für eine Dissertation erhalten.

Erich Schütz

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG